Série A, n° 3991
N° d'ordre :
4842

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

MADELEINE SEBALD

1re THÈSE. — Étude sur les bactéries anaérobies gram-négatives asporulées.

2e THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 12 DEC. 1962 devant la Commission d'examen.

MM. LWOFF ..... *Président.*
SCHAEFFER ..... } *Examinateurs.*
DUBERT ..... }

LAVAL
IMPRIMERIE BARNÉOUD S. A.

1962

Série A, n° 3991
N° d'ordre :
4842

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

MADELEINE SEBALD

1re **THÈSE.** — Étude sur les bactéries anaérobies gram-négatives asporulées.

2e **THÈSE.** — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le **devant la Commission d'examen.**

MM. LWOFF ..... *Président.*
SCHAEFFER..... } *Examinateurs.*
DUBERT..... }

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

LAVAL
IMPRIMERIE BARNÉOUD S. A.

1962

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Doyen ..... M. ZAMANSKY.

PROFESSEURS

G. JULIA	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.
DE BROGLIE	T	Théories physiques.
PRENANT	T	Anatomie et Histologie comparées.
GRASSÉ	T	Évolution des êtres organisés.
PRÉVOST	T	Chimie organique.
CHAUDRON	T	Chimie appliquée.
WYART	T	Minéralogie et Cristallographie.
TEISSIER	T	Zoologie.
MANGENOT	T	Biologie végétale (Orsay).
AUGER	T	Physique quantique et Relativité.
MONNIER	T	Physiologie générale.
PIVETEAU	T	Paléontologie.
ROCARD	T	Physique (E.N.S.).
CARTAN	T	Mathématiques (E.N.S.).
LAFFITTE	T	Chimie générale.
FAVARD	T	Géométrie supérieure.
COULOMB	T	Physique du Globe.
Mlle COUSIN	T	Biologie animale (S.P.C.N.)
CHRÉTIEN	T	Chimie minérale.
DRACH	T	Zoologie.
KASTLER	T	Physique (E.N.S.).
EPHRUSSI	T	Génétique.
RIVIÈRE	T	Géologie (S.P.C.N.) et sédim.
GAUTHERET	T	Biologie vég. (P.C.B.).
LUCAS R.	T	Recherches physiques.
THOMAS A.	T	Biol. cellulaire.
ARNULF	T	Optique appliquée.
MORAND	T	Physique Enseignement.
SOLEILLET	T	Physique (P.C.B.).
FORTIER	T	Mécanique expérimentale des fluides.
DANJON	T	Astronomie.
PETIT	T	Biologie maritime.
QUÉNEY	T	Météorologie et dynamique atmosphérique.
GALLIEN	T	Embryologie.
EICHHORN	T	Botanique.
DE CUGNAC	T	Biol. végétale (S.P.C.N.).
Mlle CAUCHOIS	T	Chimie physique.
THELLIER	T	Physique du Globe.
L'HÉRITIER	T	Biologie générale (Orsay).
GRIVET	T	Radioélectricité (Orsay).
PONCIN	T	Mécanique générale.
DUBREIL	T	Arithmétique et théorie des nombres.
QUELET	T	Chimie organique.
CAGNIARD	T	Géophysique appliquée
CHAMPETIER	T	Chimie macromolécul.
CUVILLIER	T	Micropaléontologie.
JUNG	T	Pétrographie.
TRILLAT	T	Microscopie et diffract électronique.
WIEMANN	T	Chimie organique et structurale.
JACQUINOT	T	Spectroscopie et physique céleste (Orsay).
VASSY	T	Physique de l'atmosphère.
DESTOUCHES	T	Théories physiques.
AMIEL	T	Chimie générale.
HOCART	T	Minéralogie et Cristal lographie.
J.-P. MATHIEU ...	T	Physique (Optique).
COUTEAUX	T	Biol. animale (P.C.B.).
MAY	T	Zoologie (Orsay).
CHOQUET	T	Théor. des fonctions et Topologie.
FELDMANN	T	Biologie végétale marine.
GUINIER	T	Physique des Solides (Orsay).
JOST	T	Physiologie comparée.
FORTET	T	Calcul des Probabilités et Physique mathématique.
SCHWARTZ	T	Calc. diff. et intégr.
CHOUARD	T	Physiologie végétale.
MALAVARD	T	Aviation (Techn. aéronaut.).
BRELOT	T	Calcul diff. et intégral.
NORMANT	T	Synthèse organique générale.
BÉNARD	T	Chimie minérale.
BUVAT	T	Botanique (E.N.S.).
DUGUÉ	T	Statistiques mathém.
SOULAIRAC	T	Psychophysiologie.
ULRICH	T	Physiologie végétale.
MARÉCHAL	T	Optique théorique et appliquée.
KIRRMANN	T	Théories chimiques.
CHADEFAUD	T	Botanique.
Mlle LE BRETON ..	T	Physiologie de la nutr.
SALEM	T	Mathématiques générales.
LELONG	T	Applic. de l'analyse à la géométrie.
DEVILLERS	T	Anatomie et Histologie comparées.
EHRESMANN	T	Topologie algébrique.
FRANÇON	T	Physique (S.P.C.N.).
GLANGEAUD	T	Géogr. physique et Géologie dynamique.
GODEMENT	T	Mathématiques (M.P.C.)
PISOT	T	Techn. mathém. de la Physique.
ROCH	T	Géologie.
SCHATZMAN	T	Astrophysique.
TERMIER	T	Paléontologie stratigraphique.
ZAMANSKY	T	Mathématiques générales.
LENNUIER	T	Physique (M.G.P.).
RIZET	T	Génétique (Orsay).
ROUTHIER	T	Géologie appliquée.
Mme TONNELAT	T	Physique théorique.
DIXMIER	T	Mathématiques (M.P.C.).
SOUCHAY	T	Chimie générale.
AIGRAIN	T	Électrotechn. générale.
BRUSSET	T	Chimie systématique.
M. LÉVY	T	Physique théorique des hautes énergies (Orsay).
Mme CHAIX	T	Chimie biologique.
Mme HUREL-PY ...	T	Biol. vég. (P.C.B.).
PIAUX	T	Chimie (M.P.C.).
BRUN	T	Mécan. théorique des Fluides.

PROFESSEURS *(suite)*

Lederer	T	Chimie biologique.
Mme Dubreil	T	Mathématiques (Agrég.).
Mme Lelong	T	Mathém. (E.N.S.).
Bellair	T	Géologie (S.P.C.N.).
Cotte	T	Physique électricité.
Dubois J. E.	T	Chimie organique.
Lamotte	T	Zoologie (E.N.S.).
Michel André ...	T	Chimie minérale (Orsay).
Olmer	T	Énergétique générale.
Rouault	T	Électricité (Orsay).
Gauthier	T	Mécanique appliquée.
Barchewitz	T	Chimie physique.
Brossel	T	Physique atomique.
Buser	T	Physiologie comparée.
Camus	T	Physiologie vég. (B.M. P.V.).
Castaing	T	Physique (Orsay).
Curien	T	Minéralogie et Cristallographie.
Moyse	T	Physiol. vég. (Orsay).
Noirot	T	Évolution des Êtres organisés.
Pannetier	T	Chimie générale (Orsay).
Possompes	T	Zoologie.
Pullmann	T	Chimie théorique.
Teillac	T	Physique nucléaire et Radioactivité.
Tonnelat	T	Biologie physico-chim.
Ville	T	Économétrie.
Willemart	T	Chimie (P.C.B.).
Dodé	T	Chimie (Orsay).
Freymann	T	Recherches physiques.
Guinochet	T	Biol. végét. (S.P.C.N.) (Orsay).
Rollet	T	Chimie (P.C.B.).
Mlle Josien	T	Chimie (S.P.C.N.).
Chevalley	T	Géométrie algébrique et théorie des groupes.
Arnoult	T	Électronique (Orsay).
Chapelle	T	Physique (Orsay).
Delange	T	Mathématiques (Orsay).
Deny	T	Mathématiques générales (Orsay).
Germain	T	Mécanique théorique des fluides.
Lucas G.	T	Géologie.
Allard	T	Chimie physique.
Berthelot	T	Physique fondamentale des hautes énergies (Orsay).
Brucart	T	Météorologie et Phys. de l'atmosphère.
Mme Albe-Fessard.	T	Psychophysiologie.
Friedel	T	Physique des Solides (Orsay).
Julia M.		Étude des Moléculaires naturelles complexes.
Lender	T	Biol. animale (S.P.C.N.) (Orsay).
Magat		Physico-chimie des radio-éléments.
Mlle Quintin	T	Électrochimie.
Monod	T	Chimie du métabolisme.
Benoit	T	Physiologie animale (Orsay).
De Possel	T	Analyse numérique.
Charlot	T	Chimie analytique.
Haïssinsky	T	Radiochimie.
Lemée	T	Physiologie vég. (B.M. P.V.) (Orsay).
Guérin	T	Chimie (M.P.C.) (Orsay).
Chatelet M.	T	Chimie (P.C.B.).
Jean	T	Physique nucléaire (Orsay).
Mattler	T	Physique (S.P.C.N.).
Michel Louis		Phys. théor. des Hautes Énergies (Orsay).
Bergerard	T	Zoologie (Orsay).
Bertein	T	Électronique (Orsay).
Bouissières		Chimie des Radioéléments (Orsay).
Mme Couture	T	Thermodynamique et Méc. physique.
Ellenberger	T	Géologie appliq. sur le terrain.
Franc		Biologie animale (P.C.B.).
Schnell		Botanique tropicale (Orsay).
Stolkowski		Physiologie générale.
Acher		Chimie biolog. (Orsay).
Baudoin		Biologie anim. (P.C.B.).
Beaumont		Biol. anim. (S.P.C.N.).
Blamont	T	Géophys. Ionosphère.
Bourreau		Botanique.
Curie D.		Physique (M.G.P.).
Durand-Delga ...		Géologie.
Fréon	T	Chimie organique (Orsay).
Heller	T	Physiologie végétale.
Tortrat	T	Calcul des Probabilités.
Cailleux		Géologie (S.P.C.N.).
Magnan	T	Physique (S.P.C.N.).
Daudel	T	Mécanique ondulatoire appl. à la Chimie théor. et à la Physique nucléaire.
Mlle Fourcroy		Biol. végétale (S.P.C.N.).
Mme Choquet-Bruhat	T	Mécan. analytique et Mécan. céleste.
Mlle Veil		Physiologie générale.
Lwoff	T	Microbiologie.
Siestrunck	T	Mécanique physique et expérimentale.
Lacombe	T	Métallurg. des métaux nucléaires.
Brochard	T	Physique (P.C.B.) (Orsay)
Cabannes	T	Mécanique générale.
Lesieur	T	Mathématiques (M.P.C.) (Orsay).
Mazet	T	Mécanique générale (Orsay).
Caire		Géographie phys. et Géol. dynamique.
Comolet	T	Mécanique des Fluides.
Coraboeuf		Physiologie animale.
Delloue		Phys. de l'exosphère.
Gorenflot		Botanique II (Orsay).
Houillon		Biol. animale (P.C.B.)
Jullien J.		Chimie (P.C.B.).
Malgrange	T	Techn. math. de la Physique.
Olivier		Antropologie.
Nozeran	T	Botanique II (Orsay).
Blanc-Lapierre ..		Physique (E.N.S.) (Orsay).
Chevaugeon	T	Botanique (Orsay).
Kahane	T	Mathématiques (Orsay).
Samuel	T	Mathématiques (E.N.S.) féminines.
Kourganoff	T	Astronomie (Orsay).
Thiry	T	Mécanique céleste.

Secrétaire Général .... R. Poullain

Cette étude a été réalisée dans le Service des Anaérobies de l'Institut Pasteur, sous la direction de notre Maître A.-R. Prévot qui a bien voulu nous faire profiter de sa grande expérience. Qu'il veuille trouver ici le témoignage de notre affectueuse reconnaissance.

M. le Professeur A. Lwoff nous a fait l'honneur de s'intéresser à ce travail ; qu'il veuille accepter l'expression de notre respectueuse gratitude.

Nous avons tiré le plus grand profit des conseils que nous ont donnés MM. P. Schaeffer, J. M. Dubert et E. Barbu.

Ce travail a été réalisé grâce aux subventions du Fonds National Belge d'Interventions Sociales et Scientifiques : nous remercions vivement M. le Comte P. de Launoit et M. le Professeur Van Straelen.

Que MM. L. Cotoni et J. C. Levaditi qui nous ont fait entrer à l'Institut Pasteur, M. le Professeur J. Tréfouël et M. L. Aublant qui ont toujours manifesté une grande bienveillance à notre égard, veuillent trouver ici le témoignage de notre respectueuse reconnaissance.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41523703_0056

PLAN

Pages

Avant-propos 1

Généralités 3

I. Première partie. — ***Historique.***

A. Systématique. 9
B. La flore Gram-négative de l'intestin postérieur des termites . . 27
C. Spécificité de la composition en bases de l'ADN et son utilisation en systématique 29

II. Deuxième partie. — ***Travaux personnels.***

A. Techniques :
1° Milieux d'isolement et de culture. 35
2° Technique du prélèvement du contenu intestinal des termites . 37
3° Techniques d'isolement et de détermination. 37
4° Teneur en bases de l'ADN. 41

B. Résultats :
1° Les souches Gram-négatives des termites et des blattes . . 47
α) Résultats généraux 47
β) Étude des souches : groupe I. 51
: groupe II 55
: groupe III 61
γ) Commentaires zoologiques 64
2° Les souches de collection, étude de quelques caractères . . 69
3° Teneur en bases de l'ADN de 145 souches 71

C. Commentaires :
1° Les bactéries Gram-négatives mobiles 89
2° G. *Ristella* 101
3° G. *Fusiformis* 104
4° G. *Ristella* et g. *Fusiformis*. 114
5° G. *Sphærophorus*. 115
6° G. *Ristella*, *Fusiformis* et *Sphærophorus* 119
7° G. *Leptotrichia* 120
8° Les bactéries Gram-négatives des termites et des blattes . . 122

III. Troisième partie. — ***Discussion.***

A. Valeur des critères phénotypiques. 125
1° Valeur systématique du polymorphisme 126
2° Valeur du critère « morphologie des extrémités » 133
B. Intérêt systématique du rapport (A + T)/(G + C) 135

IV. — ***Conclusions*** 145

V. — ***Bibliographie*** 151

Figures.

AVANT-PROPOS

De récents colloques et articles nous ont rappelé que nous ne pouvons pas définir l'espèce bactérienne. Le plus souvent nous sommes privés du critère ultime de conspécificité que représente le croisement entre individus apparentés, vu qu'il s'agit d'espèces asexuelles ; dans le cas d'espèces sexuelles tous les problèmes n'en sont pas pour autant résolus. Dans les conditions artificielles où nous les cultivons, la variabilité des bactéries est extrême ; nous ne connaissons pas de façon certaine d'espèces fossiles. Préciser les affinités des bactéries en vue d'en comprendre l'évolution est l'un des buts de la bactériologie.

Par suite de son ignorance de l'unité systématique de base, le bactériologiste est également embarrassé pour définir un genre, une famille, un ordre... Or les espèces bactériennes sont classées en groupes en fonction de leurs affinités. Les termes qui précisent le rang taxinomique des groupes sont ainsi définis dans le Code de Nomenclature bactérienne : « Tout individu appartient à une espèce, toute espèce à un genre, tout genre à une famille, toute famille à un ordre, tout ordre à une classe, toute classe à une division ». L'application de ce principe n'est pas toujours aisée. Aucun des critères utilisés dans les classifications phénotypiques actuelles n'a de valeur absolue. Il faut donc adjoindre à ceux-ci un critère génotypique de valeur certaine — indépendante de notre appréciation personnelle — et qui soit facile à établir sur un très grand nombre de souches. C'est dans ce but que de nombreux bactériologistes, à la suite des travaux de Chargaff et de son école, précisent la teneur en bases puriques et pyrimidiques de l'ADN bactérien.

Le présent travail est une contribution à l'étude des affinités des bactéries anaérobies Gram-négatives asporulées ; une place importante a été réservée à la détermination de la teneur en bases de leur ADN. D'autre part, sont apportées quelques données relatives à la flore intestinale anaérobie Gram-négative des termites et des blattes.

GÉNÉRALITÉS

Soixante-dix ans après l'isolement par Schmorl de *Bacillus necrophorus*, il est possible de faire état d'une centaine d'espèces bactériennes anaérobies strictes, asporulées, Gram-négatives, faciles à isoler et à cultiver sur les milieux usuels, si l'on ne considère que celles appartenant aux *Eubacteriales* et *Actinomycetales*. Et cependant, une grande confusion règne dans leur nomenclature et leur systématique. Un nombre important d'entre elles, en particulier les espèces *plauti*, *fusiformis*, *nucleatus*, *necrophorus*, *polymorphus*, *biacutus*, *vescus*... a, tour à tour, été inclus par les taxinomistes dans les genres les plus divers : *Fusiformis*, *Fusobacterium*, *Bacteroides*, *Leptotrichia*, *Sphærophorus*, *Ristella*, *Fusocillus*, *Necrobacterium*... ; presque toutes les combinaisons possibles ont été tentées entre les espèces et genres précités, dans les diverses clés de détermination ; aucune n'est tout à fait satisfaisante parce qu'elles sont toutes arbitraires et prématurées. L'existence même des espèces les plus « gênantes » est niée par certains (cas des bactéries mobiles du groupe étudié). Essayer de comprendre les causes d'une telle confusion et tenter d'y remédier, tel est l'objet de ce travail.

Les systèmes de classification actuellement en usage, « phénotypiques par nécessité » lors de leur élaboration (Schæffer, 1961) (156), seront dans les années prochaines remaniés en fonction des données de la génétique et de la biochimie microbienne. Il est cependant prématuré de songer à réaliser des transferts génétiques entre bactéries anaérobies Gram-négatives, parce que ce groupe est infiniment moins bien connu que celui des *Enterobacteriaceæ* par exemple, et en raison du fait même de leur anaérobiose très stricte, qui en complique singulièrement l'étude. Aussi avons-nous repris, sous la direction et les conseils de A. R. Prévot, l'étude de ce groupe microbien, en fonction des critères phénotypiques classiques et de la teneur en bases puriques et pyrimidiques de l'ADN.

*
* *

L'un des buts de ce travail était de tenter de mettre fin à une divergence de nomenclature entre deux termes génériques désignant un même groupe : *Fusiformis* Hoelling, 1910 et *Fusobacterium* Knorr, 1922 ; le terme *Fusi-*

formis répondrait à un *nomen nudum*, estiment les partisans de Knorr, puisque l'espèce-type *Fusiformis termitidis* Hoelling n'a jamais été cultivée, mais seulement observée sur des frottis du contenu intestinal de termites. Cet argument est-il réellement valable et doit-on alors abandonner le terme de *Fusiformis*, malgré son antériorité historique, au profit de celui de *Fusobacterium* ?

Ce problème ne pouvait être résolu que par l'étude de la *flore anaérobie stricte Gram-négative de l'intestin postérieur de termites*. Les quelques souches anaérobies Gram-positives isolées parallèlement sont sans intérêt dans cet exposé ; la fréquence relative de ces deux groupes sera seule rappelée ici. La classification des souches Gram-négatives isolées s'est avérée difficile, posant un diagnostic différentiel non seulement avec le genre *Fusiformis*, mais aussi avec des genres voisins : *Sphærophorus*, *Ristella*, *Leptotrichia* ; elle nous a ramenés au problème posé par les souches Gram-négatives isolées quotidiennement dans un service d'Anaérobies et provenant des cavités naturelles de l'homme et des animaux supérieurs. Le problème initial ne pouvait être résolu isolément ; il a dû être réenvisagé parallèlement à un certain nombre de problèmes très discutés dans la littérature, en particulier ceux concernant la nomenclature, la validité et la position systématique de plusieurs espèces et genres de ce groupe (autonomie et diagnostic des genres *Fusiformis*, *Ristella*, *Sphærophorus*, *Leptotrichia* d'une part, *Zuberella*, *Fusocillus*, *Sphærocillus* d'autre part, critères différentiels entre les espèces *Sphærophorus funduliformis* et *necrophorus*, *Fusiformis biacutus* et *Ristella clostridiiformis*, *Fusiformis nigrescens* et *Ristella melaninogenica*, etc.

Il est pour cela indispensable d'utiliser tous les critères taxinomiques habituels (caractères morphologiques, culturaux, physiologiques et biochimiques) ; ils ont été établis pour les souches isolées de l'intestin postérieur des termites et un certain nombre d'entre eux précisés pour des souches de collection.

Mais un autre critère de grande importance ne pouvait pas être négligé, à savoir la *teneur en bases puriques et pyrimidiques de l'ADN de leur noyau* (*). Ce caractère a été étudié par de nombreux auteurs au cours de ces dix dernières années, à la suite des travaux de Chargaff et al. ; il a été prouvé que si, dans l'acide désoxyribonucléique (ADN) un certain nombre de rapports sont constants parce que liés à sa configu-

(*) Nous utiliserons dans cet exposé l'expression *bases de l'ADN* pour désigner les bases puriques et pyrimidiques ; le mot *noyau* aura le sens donné par la définition fonctionnelle de Wollman et Jacob (1959) (196), sans préjuger de ses caractères cytologiques : il désigne la structure qui, chez les bactéries, est l'équivalent fonctionnel du noyau cellulaire des organismes évolués et dans laquelle se trouvent réunies toutes les molécules d'ADN de la cellule.

ration moléculaire spatiale (A/T, G/C, (A + G)/(C + T) (*), le rapport (A + T)/(G + C) est susceptible de très larges variations d'une espèce bactérienne à l'autre. Il s'est dégagé de l'ensemble de leurs travaux que ce *coefficient est constant pour une espèce donnée* et que des *espèces voisines ont en général des coefficients voisins.* Il existe cependant quelques exceptions : des espèces considérées comme voisines dans certaines classifications peuvent avoir des rapports (A + T)/(G + C) très différents, par exemple : *Proteus vulgaris* (1,47, Belozersky, 1957 (14) ; 1,74, Lee, Wahl et Barbu, 1956 (97)) et *Proteus morganii* (0,88, Belozersky) ; *Micrococcus lysodikticus* (0,39) et *Micrococcus pyogenes* (1,97 à 2,26 ; Lee, Wahl et Barbu).

Divers auteurs ont voulu tirer de tels faits un argument en faveur de l'exclusion de l'espèce *vulgaris* du genre *Proteus* et de l'espèce *lysodikticus* du genre *Micrococcus.* Or l'une des différences les plus importantes de ce type a précisément été signalée par Lee et al., entre *Fusiformis fusiformis* et *Fusiformis polymorphus* dont les rapports (A + T)/(G + C) sont respectivement de 2,17 et 0,70. Le travail de ces auteurs laissait supposer l'existence de deux groupes distincts de fusiformes, du moins sous l'aspect de la teneur en bases de leur ADN ; ce fait ne pouvait pas passer inaperçu dans un groupe microbien dont les limites sont si discutées et toujours remises en question. La même suggestion pouvait d'ailleurs être faite à propos de deux espèces du genre *Ristella* étudiées par Lee et al., *Ristella insolita* et *Ristella clostridiiformis,* dont les valeurs de (A + T)/(G + C) sont respectivement de 1,39 et 2,20. Quelles conséquences taxinomiques peut-on tirer de tels faits ? Comment se comportent les espèces et genres voisins de ces quelques souches Gram-négatives déjà étudiées ? La connaissance de leur teneur en bases puriques et pyrimidiques peut-elle nous aider à préciser les affinités des bactéries Gram-négatives ? (**) Tels sont les problèmes qu'il fallait tenter de résoudre.

Pour préciser les affinités entre bactéries Gram-négatives anaérobies, nous avons été amenés à établir la valeur du rapport (A + T)/(G + C) de 145 souches. Nous montrerons que la plupart des espèces caractéristiques d'un même genre ont bien des coefficients voisins, mais qu'il existe un certain nombre d' « exceptions ». Leur fréquence élevée est le reflet de notre connaissance imparfaite de ce groupe. Nous montrerons qu'il n'existe pas

(*) Les sigles A, T, G, C correspondent au nombre de molécules (par rapport à 100 molécules de bases totales) des bases respectives suivantes : adénine, thymine, guanine, cytosine.

(**) Pour abréger le texte, nous désignerons les bactéries Gram-négatives anaérobies non sporulées par l'expression bactéries Gram-négatives, suivie de l'adjectif mobile ou immobile, si nous voulons préciser ce caractère ; nous n'envisagerons ici que les bactéries cultivables sur milieux usuels, ce qui exclut les vibrions et les spirochètes.

d'exceptions si les caractères phénotypiques sont interprétés d'une certaine façon.

Avant de proposer une modification de la systématique de ce groupe, il nous a paru nécessaire d'élargir le problème en envisageant sur un plan général les rapports entre ADN et systématique bactérienne. En effet des facteurs, autres que la composition quantitative globale en bases, contribuent à la spécificité de l'ADN ; celle-ci est déterminée de façon ultime par l'ordre d'enchaînement des nucléotides dans la molécule d'ADN, et à la suite de plusieurs travaux récents, on ne peut pas douter du rôle que de tels faits joueront dans la systématique de l'avenir.

Après avoir ainsi précisé la valeur taxinomique du critère (A + T)/(G + C) nous verrons que la systématique des bactéries Gram-négatives peut en bénéficier dès à présent, à condition de ne maintenir dans un même genre que des espèces de teneurs (A + T)/(G + C) assez voisines, et de ne pas éloigner artificiellement des espèces ne différant que par des caractères morphologiques dont la valeur relative est bien connue. On aboutira au maintien de deux genres immobiles *(Ristella, Sphærophorus)* et de deux genres mobiles *(Zuberella, Sphærocillus)*. Quant à la distinction qui sera conservée entre les genres *Ristella* et *Zuberella* d'une part, *Sphærophorus* et *Sphærocillus* d'autre part, elle ne reposera plus seulement sur l'absence ou la présence fréquente de sphéroïdes (*), mais aussi sur une teneur différente en bases de leur ADN. Nous verrons combien est délicate, mais non toujours vaine, l'interprétation des critères phénotypiques, d'ordre morphologique en particulier. Si un même phénotype ne permet pas d'affirmer l'existence d'un lien naturel entre deux groupes bactériens, il peut cependant être la traduction de leur patrimoine héréditaire voisin.

Quelques remarques sont nécessaires. En raison des données un peu diverses dont il est fait état dans ce travail, il est impossible de faire une revue complète de tous les problèmes posés par les bactéries anaérobies Gram-négatives, ni de tous les faits concernant l'ADN bactérien.

Sur le plan zoologique, ce travail est une contribution à l'étude de la flore anaérobie Gram-négative de *Reticulitermes lucifugus* var. *saintonnensis* et de *Blatta orientalis* (**). Les difficultés d'envoi et, plus encore, de conservation dans un laboratoire non spécialisé de colonies de termites africains ont limité l'étude de ces derniers. Nous signalerons cependant

(*) Prévot (1938) (130) définit les sphéroïdes comme des éléments « réguliers ou irréguliers, de taille plus ou moins grande, libres ou accolés, chromaffines, non résistants à la chaleur et n'ayant pas les caractères de la spore ».

(**) Au cours de ce travail nous avons tenté de cultiver les bactéroïdes des blattes. Quelques souches anaérobies Gram-négatives ont été isolées à partir de blattes non aseptiques : elles proviennent, soit de l'intestin, soit, vraisemblablement, des tubes de Malpighi. L'étude de celles-ci sera jointe à celle des bactéries des termites dont elles sont voisines.

les quelques souches anaérobies qui en ont été isolées. D'ailleurs, en raison du problème que nous voulions résoudre, *Reticulitermes lucifugus* est un excellent « matériel » puisqu'il s'agit de termites inférieurs digérant le bois grâce à leurs flagellés. Si un groupe de termites est susceptible de posséder des bactéries fusiformes non cellulolytiques, donc voisines des fusiformes d'origine humaine, c'est bien celui des *Rhinotermitidæ*. Des termites phylogéniquement plus évolués, digérant le bois grâce à des bactéries cellulolytiques, ne pouvaient que posséder une flore anaérobie Gram-négative non cellulolytique moins abondante.

Sur le plan taxinomique, lorsqu'aucune réserve n'est faite, il s'agit de groupes dont la nomenclature, la position systématique et les caractères sont conformes à ceux du *Traité de Systématique bactérienne* de Prévot (1961) (149).

Rappelons pour mémoire que les bactéries anaérobies Gram-négatives cultivables sur milieux usuels sont, selon les auteurs, soit toutes rattachées à une même classe (Eubactériales), soit différenciées en deux classes (Eubactériales et Actinomycétales). On groupe dans la classe des Eubactériales les formes simples et indifférenciées, sans ramifications vraies, tandis que les bactéries filamenteuses, ayant tendance à se ramifier et se reproduisant au moyen d'organites spéciaux (nommés selon le genre considéré, conidie, spore, oïdiospore, sporangiospore, etc.) sont réunies dans la classe des Actinomycétales. Les Actinomycétales sont des bactéries vraies, mais elles rappellent par leur morphologie filamenteuse les champignons. Toutefois, elles s'en différencient par un certain nombre de caractères : diamètre moins grand de leurs cellules (inférieur à 1,5 μ) ; existence d'espèces sensibles aux bactériophages et d'espèces anaérobies strictes ; composition de leur paroi (présence d'acide diaminopimélique ou de lysine et absence de chitine et de cellulose). La différenciation est moins nette entre Eubactériales et Actinomycétales.

PREMIÈRE PARTIE

HISTORIQUE

A. — SYSTÉMATIQUE

Seuls seront rappelés par ordre chronologique les travaux qui concernent un problème de nomenclature ou de classification. Il a été cependant nécessaire de s'attarder sur quelques espèces-types et de citer toutes les espèces nouvelles décrites depuis 1937 (*). Enfin, nous avons volontairement réuni les divers genres comprenant des espèces Gram-négatives afin de mieux mettre en évidence les problèmes communs qu'ils posent.

Damman (**) en 1876, puis Löffler en 1884 constatent l'existence de bacilles (vraisemblablement *Sphærophorus necrophorus*) dans la diphtérie des veaux. Des bactéries fusiformes sont observées par Miller dès 1883 dans des stomatites ulcéreuses. Les primocultures sont réalisées quelques années après. Schmorl (1891) obtient pour la première fois une culture pure de *Streptothrix cuniculi (Sphærophorus necrophorus)* ; il s'agit de bâtonnets Gram-négatifs et polymorphes. Veillon et Zuber (1898) (184) réalisent la primoculture de bactéries fusiformes sur milieu gélatiné où ils obtiennent des cultures fétides et non gazogènes. En quelques années, ces deux types de bactéries sont observés par de nombreux auteurs dans divers processus infectieux de l'homme et des animaux supérieurs et dans leurs cavités naturelles à l'état sain. De nombreuses espèces sont isolées et décrites. Jusqu'en 1910 et 1919 où apparaîtront successivement les termes génériques de *Fusiformis* Hoelling et *Bacteroides* Castellani et Chalmers, aucune classification ni aucune nomenclature précise ne sont proposées pour ces espèces. *Sphærophorus necrophorus* a été rattaché à onze genres différents ; pour *Fusiformis fusiformis* nous citerons comme synonymes *Bacillus fusiformis* Veillon et Zuber, 1898, « bacille fusiforme »

(*) Pour une bibliographie complète, consulter Weinberg, Nativelle et Prévot (1937) (190), Böe (1941) (25), Lahelle (1947) (91), Prévot (1955) (144).

(**) Pour les citations de ce chapitre qui ne figurent pas à l'index bibliographique, consulter Weinberg, Nativelle et Prévot (1937) (190), 660-805.

Vincent, 1899, *Bacillus hastilis* Seitz, 1899, *Bacterium fusiforme* Klinger, 1912, *Corynebacterium fusiforme* Lehmann et Neumann, 1907.

Les espèces voisines de *Sphærophorus necrophorus* ont été aussi rattachées aux genres les plus divers : *Bacillus* (*B. funduliformis* Hallé, 1898), *Bacterium* (*B. halosepticum* Wyss, 1904, *Bacterium* de Freund, Freund, 1922), *Actinomyces* (*A. pseudonecrophorus* Harris et Howard-Brown, 1927, *A. gonidiaformans* Tunnicliff et Jackson, 1925), *Streptobacillus* (*S. pyogenes floccosus*, Courmont et Cade, 1900) ou *Coccobacillus* (*C. præacutus* Tissier, 1908).

En 1910, Hoelling (73) examine des frottis préparés pour l'étude des Trichonymphidés du contenu intestinal de termites et il observe des bacilles fusiformes ; il rejette pour eux la dénomination alors en usage de *Bacillus fusiformis* et propose d'utiliser le terme générique de *Fusiformis* plus évocateur de leur morphologie. Il cite comme espèces-types : *Fusiformis termitidis*, *Fusiformis muris* (présent dans le cæcum d'une souris) et *Fusiformis dentium* (présent dans la cavité buccale). Aucune de ces espèces n'est cultivée par cet auteur, aucune définition valable du genre *Fusiformis* n'est donnée : l'article contient seulement une planche figurant ces bactéries qui évoquent incontestablement des fusiformes avec un aspect fin, des extrémités effilées et des noyaux en nombre variable. Il ne faut pas s'étonner si de nombreux bactériologistes abandonneront peu à peu cette dénomination de *Fusiformis* au profit de termes proposés ultérieurement, et si ceux qui continueront à se rallier à la nomenclature de Hoelling seront vivement critiqués.

Krumwiede et Pratt (1913) (89) différencient bien les bacilles fusiformes des spirochètes ; l'étude de 15 souches de fusiformes leur permet de préciser quelques caractères importants : bactéries immobiles, donnant des cultures non gazogènes, fétides, indologènes, fermentant dextrose, galactose et lévulose ; elles se différencient en deux groupes selon leur action sur le saccharose.

Castellani et Chalmers (1919) proposent — dans le but d'individualiser les bactéries anaérobies de l'ensemble des *Bacillus* — un nouveau genre, *Bacteroides*, groupant « les anaérobies stricts non sporulés, non fluorescents, non pigmentés, poussant bien sur milieux ordinaires » (cité par Prévot, 1938 (130)).

Enfin rappelons que Trevisan (1879) a proposé le genre *Leptotrichia* pour les bactéries filamenteuses répondant à la définition : *Somatia cylindrica, plus minus distincte articulata, tenuia, elongata, filiformia, recta, laxe fasciculata* (cité par Thjötta, Hartmann et Böe (1939) (178)) (cellules cylindriques, plus ou moins articulées, fines, allongées, filiformes, droites, lâchement disposées en faisceaux).

Tenant compte des définitions précédentes, le Comité Américain de Nomenclature bactérienne (152) envisage pour la première fois en 1920

les rapports de ces genres et propose la subdivision de ces bactéries, Gram-négatives pour la plupart, en 3 genres :

— Genre *Bacteroides* Castellani et Chalmers, 1919 (Eubacteriales).

— Genre *Fusiformis* Hoelling, 1910, groupant les bactéries effilées (classe des Actinomycétales ; famille des *Mycobacteriaceæ*). Espèce-type : *Fusiformis termitidis* Hoelling.

— Genre *Leptotrichia* Trevisan, 1879 (classe des Actinomycétales ; famille des *Actinomycetaceæ*). Espèce-type : *Leptotrichia buccalis* Robin.

Nous verrons que cette conception va prédominer jusqu'en 1934 dans le *Bergey's Manual* et jusqu'en 1946 dans le *Traité* de Topley et Wilson.

La première tentative valable de classification des bacilles fusiformes est celle de Kritchewsky et Séguin (1921) (adoptée par Seguin (1928) et Weinberg, Nativelle et Prévot (1937) (190) p. 830) : l'examen direct et les caractères culturaux permettent de différencier trois types :

— *Type I*, bactéries très mobiles, plus ou moins effilées aux extrémités, renflées au centre, d'assez grande taille, Gram-négatives ; cils facilement mis en évidence ; très peu ont été obtenues à l'état pur. Ce type semble correspondre au type mobile décrit par Plaut ; ces auteurs le nomment bacille de Plaut.

— *Type II*, bactéries Gram-négatives, grêles, en aiguille, allongées, parfois incurvées ou légèrement spiralées dont la mobilité est faible (mouvement de rotation et de balancement) ; la ciliature n'a pas été mise en évidence ; les cultures sont difficiles à obtenir ; il s'agit du bacille de Shmamine.

— *Type III*, bacille en fuseau, rigoureusement immobile, non cilié, Gram-négatif, les cultures sont faciles à réaliser en anaérobiose sur milieux additionnés de protéines fraîches, elles sont fétides et souvent même putrides : c'est le bacille de Vincent.

Knorr (1922) (87) étudie les agents responsables des « fusospirochètoses » et plus particulièrement de leur localisation amygdalienne (*). Ignorant le travail de Hoelling, il propose, pour quatre organismes qu'il obtient en culture pure, la dénomination générique de *Fusobacterium* et reconnaît l'existence de trois espèces distinctes : *plauti-vincenti*, *nucleatum* et *polymorphum*. Leur classification est basée sur les caractères morphologiques et culturaux :

(*) Certains auteurs, Wilson et Miles (1946 et 1955) (194), Baird-Parker (1960) (1), tendront à établir une différence entre bactéries fusiformes de la bouche et du milieu intestinal, hésitant à inclure ces dernières dans le g. *Fusiformis*, même si elles sont effilées. Notons donc que Knorr n'établit pas une telle distinction puisqu'il dit retrouver des *Fusobacterium* dans le tube digestif de l'homme et de nombreux animaux, et également dans les eaux stagnantes.

F. plauti-vincenti est un diplobacille en fuseau de 8-10 μ × 0,5 à 1 μ possédant parfois des formes incurvées et filamenteuses ; sérophile obligé au départ, il peut ensuite être repiqué sur milieu ne contenant pas de sérum ; il ne trouble pas le milieu bouillon-foie, mais y produit un dépôt grisâtre, floconneux.

F. nucleatum est un diplobacille en fuseau présentant un certain nombre de « noyaux ».

F. polymorphum est toujours protéiforme, quel que soit le milieu de culture (formes de 150 à 300 μ). Ces trois espèces peuvent également être différenciées par l'aspect des colonies, leur aptitude à croître avec ou sans sérum, leurs fermentations des glucides ; aucune des souches ne produisait d'indole ni d'H_2S. Aucun autre caractère n'a été précisé par Knorr.

Deux termes génériques, *Fusiformis* Hoelling et *Fusobacterium* Knorr, vont désormais alterner dans la littérature avec une régularité déconcertante.

Dans la première édition du *Bergey's Manual* en 1923 (18), les bactéries Gram-négatives sont groupées dans les genres *Bacteroides*, *Leptotrichia* et *Fusiformis* dont la position systématique est celle définie par le Comité Américain de Nomenclature bactérienne de 1920, déjà cité.

En 1926, Weinberg et Prévot (189) isolent, dans plusieurs cas d'appendicite aiguë, une espèce nouvelle de bactérie fusiforme pour laquelle ils proposent la dénomination de *Fusobacterium biacutum*. Il s'agit d'un diplobacille effilé, asporulé, Gram-négatif, donnant des cultures inodores, très gazogènes, très glucidolytiques, non indologènes, non protéolytiques, coagulant le lait.

Varney, 1927 (183) tente une classification sérologique de 18 souches de bactéries fusiformes en 4 groupes et 2 sous-types, par épreuve d'agglutination (tableau I).

Pratt (1927) (129) critique la classification sérologique proposée par Varney et distingue deux types en se basant sur les caractères morphologiques et la fermentation du saccharose.

Dans les 3e et 4e éditions du *Bergey's Manual* (1930 et 1934) (18) la classification générale de la première édition reste inchangée : certaines espèces sont incluses dans le genre *Fusiformis* qui comprend maintenant les espèces *termitidis* Hoelling, *dentium* Hoelling, *nucleatum* Knorr et *polymorphum* Knorr. Les autres espèces nouvelles ne sont pas citées.

Lehmann, Neumann et Breed (1931) cités par Prévot (145) admettent pour la première fois la classification de Knorr et son terme générique *Fusobacterium*.

Smith (1932) (165) admet l'existence de trois types morphologiques de fusiformes, dont deux sont mobiles.

Slanetz et Rettger (1933) (164) étudient 53 souches de *Fusobacterium* et, se basant sur les caractères morphologiques, culturaux et biochimiques, parviennent à différencier 4 types ; par contre ils n'obtiennent aucun résultat par épreuve d'agglutination. Toutes leurs cultures sont fétides. Ils distinguent (tableau I) :

Type I : bâtonnets effilés de 3 à 6 μ × 0,4 à 0,6 μ (type court) ; le bouillon n'est pas troublé ; le glucose seul est fermenté ; production d'indole.

Type II : long, mince (6 à 20 μ) ; indologène ; fermente uniquement le glucose.

Type III : plus épais et plus long (6 à 25 μ) ; indole irrégulièrement formé ; fermentation du glucose et du saccharose.

Type IV : long, formant des chaînes, ne produit jamais d'indole ; fermente glucose, lactose et saccharose.

Tous les travaux précédemment cités concernaient des bactéries fusiformes, incluses dans les genres *Fusiformis* ou *Fusobacterium*. D'autres bactéries non effilées à extrémitées arrondies, parfois cocco-bacillaires ont été parallèlement décrites : *Bacillus funduliformis* Hallé, 1898, *Bacillus variabilis* Distaso, 1912, *Bacillus thetaiotaomicron* Distaso, 1912, *Coccobacillus anaerobius perfœtens* Tissier, 1900, *Coccobacillus præacutus* Tissier, 1908, etc. (consulter Weinberg, Nativelle et Prévot, 1937 (190), p. 785-790). Ces espèces sont incluses dans le genre *Bacteroides* Castellani et Chalmers, ou plus souvent non citées dans les classifications antérieures à 1933.

A partir de 1933, avec Eggerth et Gagnon (58) les bactéries Gram-négatives anaérobies à extrémités généralement non effilées vont être étudiées plus à fond ; ces auteurs examinent en effet 118 souches de *Bacteroides* Gram-négatifs et proposent une classification basée sur leurs fermentations des glucides. Ils les différencient en 18 espèces, proposant à côté de *Bacteroides variabilis* et *Bacteroides thetaiotaomicron* Distaso, 16 espèces nouvelles *(gulosus, uniformis, vulgatus, incommunis, distasonis, uncatus, tumidus, ovatus, vescus, convexus, exiguus, inæqualis, insolitus, varius, coagulans* et *siccus)*.

L'histoire des *Bacteroides* et des *Fusiformis-Fusobacterium* va désormais être de plus en plus étroitement intriquée ; la position systématique de certaines espèces variera d'un genre à l'autre (espèces *necrophorus, vescus...*).

Eggerth et Gagnon (1933) (58) reconnaissent l'illogisme de maintenir dans le genre *Bacteroides*, à côté des espèces précitées, des espèces Gram-positives.

Dans la 2e édition du *Manuel* de Topley et Wilson, 1936 (179), le genre *Bacteroides* et les espèces qu'il comprend ne sont pas cités. Le genre *Fusiformis* est inclus dans la famille des *Mycobacteriaceæ (Actinomycetales)*,

TABLEAU I. — *Principales c*

Knorr 1922 (87)	Varney 1927 (183)	Hine et Berry 1937 (72)	Slanetz et Rettger 1933 (164)	Spaulding et Rettger 1937 (169)
(Fusobacterium)	(Bacilles fusiformes)	*(Fusiformis)*	*(Fusobacterium)*	*(Fusobacterium*
F. nucleatum	Type I (sous-groupe II) Type II	*F. nucleatus*	Type I	Groupe I type
F. polymorphum	Type I (sous-groupe I) Type III	*F. polymorphus*	Type II	Groupe I type
			Type III	Groupe I type Souches intermédiaire
				Groupe II type
F. plauti-vincenti	Type III Type IV	*F. dentium*		
			Type IV	Groupe II type

(*) Cf. Réserves p. 104 à p. 112.

à côté des genres *Mycobacterium*, *Corynebacterium*, *Pfeifferella*, et avec pour espèce-type *Fusiformis termitidis* Hoelling ; il comprend 4 autres espèces : *Fusiformis fusiformis*, *Fusiformis necrophorus*, *Fusiformis serpens*, *Fusiformis furcosus*. Le genre *Leptotrichia* est au contraire inclus dans la famille des *Actinomycetaceæ (Actinomycetales)*.

Weinberg, Nativelle et Prévot (1937) (190) distinguent 3 types morphologiques de bactéries Gram-négatives anaérobies asporulées : bâtonnets, fusiformes et *Leptothrix* (filaments). En ce qui concerne les fusi-

ations des bactéries fusiformes.

ë et Thjötta 1944 (26)	Topley et Wilson 1955 (194)	Bergey 1957 (18)	Prévot 1957 (141)	Baird-Parker 1960 (1)
usobacterium Leptotrichia)	*(Fusiformis)*	*(Fusobacterium)*	*(Fusiformis)*	*(Fusobacterium* et *Leptotrichia)*
olauti-vincenti	?	*F. nucleatum*	*F. nucleatus*	*F. nucleatum*
olauti-vincenti	?	*F. polymorphum*	*F. polymorphus* (*)	*F. polymorphum*
olauti-vincenti Absence de souches termédiaires				
L. buccalis	*F. fusiformis*	*F. fusiforme*	*F. fusiformis* (*)	*F. fusiforme* et *L. buccalis*
	? ? ? *F. necrophorus* *F. serpens* *F. fragilis* *F. melaninogenicus*	*F. biacutum* *F. vescum* ? *F. præacutum*	*F. biacutus* *F. vescus* *F. hæmolyticus*	

formes, ils se rallient à la classification de Kritchewsky et Séguin (1921) déjà rappelée et ajoutent en appendice *Fusobacterium biacutum* Weinberg et Prévot, 1926 ; en raison de sa forme en fuseau ils avaient ainsi classé cette espèce en 1926 ; mais ils se demandent si elle doit toujours rester incluse dans ce groupe en raison d'un certain nombre de caractères : à l'encontre des autres espèces, elle n'est pas sérophile, pousse d'emblée sur les milieux ordinaires ; sa durée de survie dans les milieux de culture usuels est grande ; enfin elle ne présente pas de granulations métachromatiques. Les auteurs

concluaient : « Le problème est actuellement difficile à résoudre du fait que ce genre manque de limites nettes et n'est pas admis par toutes les systématiques ». Weinberg et al. retiennent pour les 3 types de Kritchewsky et Séguin, nettement individualisés sur le plan morphologique et biochimique, la dénomination de « bacille fusiforme » type Vincent, Plaut ou Shmamine. En ce qui concerne les bacilles anaérobies asporulés, ils décrivent tous ceux cités dans la littérature en les rangeant par ordre d'importance ; mais, en raison de la connaissance trop fragmentaire qu'ils ont de ce groupe, ils ne se croient pas autorisés à en proposer une classification.

Weiss et Rettger (1937) (191) reprennent l'étude de 73 souches Gram-négatives de *Bacteroides* ; ils critiquent la classification d'Eggerth et Gagnon (1933) basée sur l'étude des fermentations des glucides et proposent une classification en 4 groupes basée sur des caractères sérologiques et morphologiques (groupe I, espèce-type : *Bacteroides vulgatus* ; groupe II, espèce-type : *Bacteroides varius* ; groupe III, espèce-type : *Bacteroides uncatus* ; groupe IV, espèces-types : *Bacteroides variabilis* et *inæqualis*). Le groupe IV a les mêmes caractères morphologiques que le groupe II mais il est sans relation sérologique avec lui ; le groupe III n'a aucune relation avec les autres.

Hine et Berry (1937) (72) (tableau I) tentent de classer 104 souches du genre *Fusiformis* d'origine buccale ; ils critiquent la classification de Slanetz et Rettger et distinguent 3 types morphologiques, donnant 3 types de colonies à la surface des géloses : *Fusiformis nucleatus* (bâtonnet droit, effilé, indole +, colonies rondes, blanc-grises, convexes, de type S ; les fermentations des glucides sont variables) ; *Fusiformis polymorphus* (filaments parfois ondulés, indole +, colonies R à bords irréguliers) ; *Fusiformis dentium* (diplobacilles, donnant des colonies coniques, indole O, pouvoir glucidolytique intense).

Spaulding et Rettger (1937) (169) tentent une nouvelle classification biochimique et sérologique du genre *Fusobacterium* ; l'étude de 80 souches Gram-négatives asporulées immobiles leur permet de différencier 2 groupes et 4 sous-groupes (cf. tableau I). Le groupe I fermente glucose et saccharose, est indologène et produit H_2S sur tous milieux ; le groupe II fermente glucose, saccharose, maltose, tréhalose, lactose et raffinose, est non indologène et ne produit d'H_2S qu'en présence de cystéine.

Prévot (1938) (130) critique l'absence de précision de la définition du genre *Bacteroides* Castellani et Chalmers, permettant « de grouper dans ce soi-disant genre les espèces les plus disparates et ne présentant entre elles aucune parenté réelle », ce qui aboutit à la coexistence dans « le même soi-disant genre » de bactéries Gram-négatives ou Gram-positives, ramifiées ou non, possédant ou non des sphéroïdes, mobiles ou non. Il propose la suppression du terme *Bacteroides* « pour insuffisance de précision et absence

d'homogénéité parmi les espèces qu'il prétendait grouper » (*). Il reclasse les 120 espèces primitivement incluses dans ce même genre en 17 genres (6 anciens et 11 nouveaux) dont 10 groupent les bactéries Gram-négatives (voir tableau 2). Comme ces termes seront constamment utilisés dans ce travail, nous en rappelons la définition :

— g. *Dialister* Bergey et al. Bâtonnets de formes très petites, à la limite de la visibilité traversant les bougies filtrantes. Espèce-type *Dialister pneumosintes* Olitsky et Gates ;

— g. *Pasteurella* Trevisan. Bâtonnets ovoïdes, immobiles, aciliés, non encapsulés, Gram-négatifs à coloration bipolaire, à formes involutives très variées. Espèce-type : *Pasteurella vulgata* Eggerth et Gagnon.

TABLEAU 2. — *Classification des bactéries Gram-négatives anaérobies* (D'après Prévot (1938) (130)).

Classe	Famille	Genre	Caractères principaux
Eubacteriales asporulées (formes simples sans ramifications vraies.)	*Ristellaceæ* Prévot.	*Dialister* Bergey et al.	Coccobacilles de très petite taille (formes filtrantes).
	(*Eubacteriales* Gram-négatives).	*Pasteurella* Trevisan.	Coccobacilles de petite taille.
		Capsularis Prévot.	Bâtonnets immobiles, capsulés.
		Ristella Prévot.	Bâtonnets immobiles, acapsulés.
		Zuberella Prévot.	Bâtonnets mobiles.
Actinomycétales (formes filamenteuses, ramifiées ; corpusculeux reproducteurs).	*Sphærophoraceæ* Prévot.	*Fusiformis* Hoelling.	Bâtonnets effilés, sphéroïdes ; immobiles.
	(*Actinomycétales* Gram-négatives).	*Sphærophorus* Prévot.	Bâtonnets non effilés, sphéroïdes ; immobiles.
		Sphærocillus Prévot.	Bâtonnets non effilés, sphéroïdes ; mobiles.
		Fusocillus Prévot.	Bâtonnets effilés, sphéroïdes ; immobiles.
		Pseudoleptothrix Prévot.	Formes filamenteuses ; zones irrégulièrement Gram + et — ; immobiles.

(*) Prévot (communication personnelle) reproche enfin au g. *Bacteroides* Castellani et Chalmers, 1919, d'être l'homonyme postérieur non valable du terme « bactéroïde » proposé par Blochmann en 1887 et qui désigne les bactéries symbiotes des cellules graisseuses des blattes.

— g. *Ristella* Prévot. Bâtonnets asporulés simples, aciliés, immobiles, droits ou légèrement infléchis, Gram-négatifs, non encapsulés. Espèce-type : *Ristella fragilis* Veillon et Zuber ;

— g. *Capsularis* Prévot. Bâtonnets présentant les mêmes caractères que *Ristella* mais encapsulés. Espèce-type : *Capsularis zoogleiformans* Prausnitz ;

— g. *Zuberella* Prévot. Bâtonnets présentant les mêmes caractères que *Ristella* mais mobiles et ciliés. Espèce-type : *Zuberella serpens* Veillon et Zuber ;

— g. *Fusiformis* Hoelling. Bâtonnets effilés aux deux extrémités, ayant la forme d'un fuseau très allongé, immobiles, aciliés, asporulés, Gram-négatifs, présentant dans les cultures des sphéroïdes de petite taille, chromaffines et des granulations métachromatiques. Espèce-type : *Fusiformis fusiformis* Vincent ;

— g. *Sphærophorus* Prévot. Bâtonnets droits ou incurvés, très polymorphes se présentant en général dans les exsudats sous la forme d'un ovoïde à coloration bipolaire, et dans les cultures sous des formes très variées, filamenteuses, renflées, en saucisses, avec présence constante de sphéroïdes de grande taille, chromaffines, libres ou accolés aux formes allongées, métachromasies fréquentes dans les formes allongées. Immobiles, aciliés, asporulés, Gram-négatifs. Espèce-type : *Sphærophorus necrophorus* Schmorl ;

— g. *Pseudoleptothrix* Prévot. Bâtonnets très longs, filamenteux à extrémités arrondies ou effilées, non ramifiés, immobiles, aciliés, asporulés, cytoplasme finement vacuolisé, renflements ovoïdes et sphériques ou fusiformes se colorant en violet par l'iode, granulations métachromatiques, Gram-négatifs. Espèce-type : *Pseudoleptothrix innominata* Miller.

Weiss et Mercado (1938) (192) étudient les types I, II et III de *Fusobacterium* (nomenclature de Slanetz et Rettger (1933) précédemment rappelée) ; ils mettent en évidence chez eux une protéine spécifique de type ; quant à leur spécificité de groupe elle est due à un hydrate de carbone. La protéine spécifique du type I présente une communauté antigénique avec *Streptococcus evolutus* et *Streptococcus hæmolyticus* (gr. A). Il n'existe, par contre, pas de réaction croisée entre les diverses protéines spécifiques de type et les antisérums des types hétérologues, préparés par immunisation d'animaux avec des suspensions de *Fusobacterium*.

Prévot et Kirchheiner (1938) (131) étudient le type fermentaire de *Fusiformis biacutus* par la méthode de Duclaux.

Bibby et Berry (1939) (21) étudient 83 souches de bactéries filamenteuses anaérobies isolées de cavités buccales ; ils les classent en 7 groupes, rattachent 4 d'entre eux au g. *Leptotrichia* Bergey, 1934 ; le groupe VI correspond à *Fusobacterium polymorphum* Knorr ; le groupe IV est de type intermédiaire (*Fusobacterium dentium* Bergey, 1934 ou *Leptotrichia inno-*

minata Wherry et Oliver, 1916). Enfin ils ne parviennent pas à classer le groupe VII très polymorphe présentant des sphéroïdes et des ramifications.

Les auteurs de la 5e édition du *Bergey's Manual* (1939) (18) modifient un certain nombre de leurs conceptions relatives aux genres qui nous intéressent :

1) Tandis qu'ils maintiennent le g. *Leptotrichia* dans la classe des *Actinomycetales* (famille des *Actinomycetaceæ*), ils en enlèvent le g. *Fusiformis* pour l'inclure à côté du g. *Bacteroides* dans la classe des *Eubacteriales* (famille des *Bacteriaceæ*).

2) Ces auteurs considèrent que l'espèce-type du genre *Fusiformis* Hoelling *(Fusiformis termitidis)* est une espèce insuffisamment décrite et probablement sans lien avec les organismes fusiformes de la bouche humaine ; ils abandonnent donc ce terme au profit de la dénomination *Fusobacterium* Knorr. Ils prennent pour espèce-type *F. plauti-vincenti* Knorr, n'admettent pas la différence établie par Weinberg, Nativelle et Prévot (1937) et Prévot (1938) entre *Fusiformis fusiformis* immobile et *Fusocillus plauti* mobile. *Fusobacterium plauti-vincenti* Bergey diffère d'ailleurs par plusieurs caractères de *Fusiformis fusiformis*.

3) Tenant compte des critiques antérieures, ils modifient leur conception du g. *Bacteroides* qui désormais ne contiendra plus que des « bâtonnets mobiles ou immobiles, sans endospores, anaérobies stricts, Gram-négatifs, pouvant ou non requérir des milieux de culture enrichis ». Ils incluent dans ce genre 23 espèces : *B. fragilis*, *serpens*, *funduliformis*, *siccus*, *coagulans*, *varius*, *inæqualis*, *insolitus*, *vescus*, *exiguus*, *uncatus*, *vulgatus*, *incommunis*, *distasonis*, *tumidus*, *convexus*, *ovatus*, *uniformis*, *thetaiotaomicron*, *variabilis*, *gulosus*, *melaninogenicus* et *caviæ*. Ils rattachent en appendice :

— 28 espèces réparties en 6 groupes calqués sur la classification de Prévot (1938) en particulier : groupe I : g. *Ristella* Prévot, groupe II : g. *Capsularis* Prévot, groupe III : g. *Zuberella* Prévot, groupe IV : g. *Sphærophorus* Prévot, groupe V : g. *Sphærocillus* Prévot ;

— de nombreuses autres espèces insuffisamment décrites.

Thjötta, Hartmann et Böe (1939) (178) reprennent l'étude de *Leptotrichia buccalis* (Robin) Trevisan ; ils y rattachent 10 souches de bactéries filamenteuses, Gram-positives en culture jeune, *microaérophiles* ou *anaérobies facultatives* ; c'est d'ailleurs la seule espèce qu'ils admettent, rejetant toutes les autres espèces anaérobies de ce genre, soit parce qu'elles n'ont pas été obtenues en culture pure (*L. innominata* Miller), soit parce qu'elles ont été décrites comme des organismes polymorphes avec ramifications, conidies (*L. racemosa* Vincentini). Ils considèrent qu'un organisme Gram-négatif même en culture jeune ne peut pas être inclus dans le g. *Leptotrichia* ; ce qui établit une différence absolue entre ce genre et bacilles

fusiformes ou *Bacteroides funduliformis*. Enfin ils proposent d'inclure le g. *Leptotrichia* dans la famille des *Bacteriaceæ (Eubacteriales)*.

Prévot et Kirchheiner (1939) (132) montrent que *Sphærophorus funduliformis* et *Sphærophorus necrophorus* possèdent un antigène commun.

Prévot (1940) (133) au cours d'une étude sur la flore anaérobie de l'intestin humain décrit une espèce nouvelle de bactérie fusiforme mobile, *Fusocillus girans*, caractérisée par sa mobilité giratoire bien particulière, sa nonsérophilie et son pouvoir gazogène intense ; elle n'est pas indologène, coagule le lait, est glucidolytique, ne forme pas d'H_2S et est sans action sur la gélatine (134) ; sa ciliature n'a pas pu être mise en évidence.

Lewis et Rettger (1940) (103) tentent une classification de 50 souches anaérobies Gram-négatives asporulées : le groupe B_1 correspond à *Bacteroides funduliformis* ; le groupe B_2 est hétérogène et appartient aussi au genre *Bacteroides*. Lewis, Bedell et Rettger (1940) (104) précisent leurs besoins en facteurs de croissance.

Beveridge (1941) (19), au cours d'une étude sur le piétin du mouton, isole et décrit deux nouvelles espèces de bactéries anaérobies Gram-négatives : l'une immobile qu'il dénomme *Fusiformis nodosus*, l'autre fusiforme, mobile, à ciliature péritriche, non sérophile, de pouvoir gazogène inconstant, non indologène, ne coagulant pas le lait et ne produisant pas d'H_2S. L'auteur l'appelle « fusiforme mobile du piétin » et Prévot (141) la nommera *Fusocillus pedipedis*.

Böe (1941) (25) compare dix souches de *Leptotrichia* et trente souches de *Fusobacterium* qui peuvent être scindées en trois sous-groupes d'après la morphologie des colonies.

Mudd et al. (1942) (114) examinent une souche de *Fusobacterium* au microscope électronique et mettent en évidence l'existence de ramifications (extrémités bifides).

Prévot et Taffanel (1942) (135) précisent les caractères biochimiques de *Fusiformis fusiformis*.

Böe et Thjötta (1944) (26) étudient trente souches de *Fusobacterium* et vingt souches de *Leptotrichia* : ils continuent à inclure ces deux genres très voisins dans la famille des *Bacteriaceæ*. Ils s'opposent : 1° à leur inclusion dans celle des *Sphærophoraceæ* Prévot, car, selon eux, ni chez les *Fusobacterium* ni chez les *Leptotrichia* n'apparaissent de sphéroïdes ; 2° à leur inclusion dans deux familles différentes, *Bacteriaceæ* et *Actinomycetaceæ* comme le font les auteurs du *Bergey's Manual*.

Il existe selon eux : 1° une seule espèce de *Fusobacterium*, *F. plautivincenti* Knorr correspondant au groupe I de Spaulding et Rettger (1937) : elle donne des cultures non gazogènes, non gélatinolytiques, indologènes, faiblement glucidolytiques, produisant de l'H_2S ; 2° une seule espèce de *Leptotrichia*, *L. buccalis* Trevisan : bactéries anaérobies à tendance filamenteuse, Gram-positives en cultures jeunes, glucidolytiques, non gazo-

gènes, non indologènes, non gélatinolytiques. Ils identifient cette espèce au groupe II de Spaulding et Rettger, 1937, à *F. dentium* Hine et Berry, 1937, au groupe IV et à une partie du groupe III de Varney, 1927. On ne comprend pas très bien quelle relation existe entre *Leptotrichia buccalis* (Trevisan) Böe et Thjötta (1944) anaérobie stricte, et *Leptotrichia buccalis* (Robin) Trevisan, aérobie facultative bien redécrite par Thjötta, Hartmann et Böe (1939). Les auteurs n'ont pas isolé de formes intermédiaires entre ces 2 types ni de formes mobiles.

Lahelle et Thjötta (1945) (90) proposent pour l'espèce *necrophorus* un nouveau terme générique *Necrobacterium* ; ils placent ce genre très voisin de *Fusobacterium* dans les *Bacteriaceæ*.

Dans la 3e édition du *Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity* (1946) (194), les auteurs ne modifient pas leur classification antérieure ; ils continuent à ignorer la majorité des espèces Gram-négatives du g. *Bacteroides* et à inclure *Fusiformis* et *Leptotrichia* dans les Actinomycétales. Le g. *Fusiformis* comprend les espèces *termitidis*, *fusiformis*, *necrophorus*, *serpens*, *furcosus*, *ramosus*, *fragilis* et *melaninogenicus*, donc des bactéries à extrémités effilées et non effilées. Ils considèrent comme identiques les espèces *Fusiformis necrophorus* et *Bacteroides funduliformis*.

Prévot (1946) (136), au cours d'une étude systématique des *Actinomycetales*, sépare les *Sphærophoraceæ* et *Actinomycetaceæ* de la famille de *Mycobacteriaceæ* en créant pour les deux premières familles citées un nouvel ordre, celui des *Actinobacteriales* et pour la troisième, celui des *Mycobacteriales*.

Prévot et Peyré (1947) (138) précisent les caractères biochimiques de *Fusiformis polymorphus* (Knorr) ; Prévot, Beerens et Zimmes-Chaverou (1947) (137) ceux de *Sphærophorus varius* (Eggerth et Gagnon) ; Patocka et Laplanche (1947) (124) ceux de *Sphærophorus gulosus* (Eggerth et Gagnon) et de *Sphærophorus mortiferus* (Harris) Prévot, 1938.

Patocka et Prévot (1947) (122) décrivent une nouvelle espèce anaérobie Gram-négative, asporulée et capsulée : *Capsularis stabilis*.

Patocka et Reynes (1947) (123) isolent quatre souches correspondant à une nouvelle espèce anaérobie *Leptotrichia vaginalis* (bactérie filamenteuse ou bâtonnet à extrémités arrondies ou effilées, non sérophile, non gazogène, fétide).

Lahelle (1947) (91) au cours d'une étude complète morphologique, biochimique et sérologique du g. *Necrobacterium* souligne sa parenté avec le g. *Fusobacterium* déjà notée par Lahelle et Thjötta (1945), Bergey et al. (1939), et confirmée au point de vue immunologique par Prévot et Kirchheiner (1939) pour les espèces *funduliformis* et *necrophorus* ; mais ils maintiennent dans deux genres distincts les espèces *plauti-vincenti* et *necrophorus*.

Jonsen et Thjötta (1948) (81) comparent les souches de *Necrobacterium*

necrophorus de Lahelle et celles de *Sphærophorus funduliformis* de Prévot et concluent que ces deux espèces sont ou identiques, ou très étroitement liées l'une à l'autre. Les seuls caractères différentiels sont les suivants : *N. necrophorus* est d'origine animale, pathogène pour les animaux de laboratoire, pousse en bouillon en donnant un trouble uniforme ; *Sph. funduliformis* est surtout pathogène pour l'homme, pousse en donnant un floculat en milieu liquide d'emblée ou après un léger trouble du milieu dans les premières heures. Ce travail sera ensuite constamment cité en faveur de l'identité absolue des deux espèces, sauf par Prévot qui, tout en admettant ces faits, maintient l'existence de deux espèces très voisines mais différentes.

Robin (1948) (153) étudie une souche de *Fusiformis nucleatus* nitratoréductrice.

Prévot (1948) (140) décrit une espèce nouvelle de *Sphærophorus* : *Sph. ridiculosus*, dont il précise tous les caractères : elle appartient au groupe gazogène, non hémolytique, non sérophile obligé de ce genre. Il considère que ses sphéroïdes ainsi que ceux observés par Prévot et Raynaud (1948) (139) chez *Sph. funduliformis* correspondent à un mécanisme de reproduction par conjugaison nucléaire.

Prévot (1948) (141) dans la 2e édition du *Manuel de Classification et de Détermination des Bactéries anaérobies*, conserve pour ce groupe sa classification de 1938 complétée en 1946 ; il fait une description très précise de toutes les espèces décrites. La seule modification importante de nomenclature est la suppression du g. *Pseudoleptothrix* (Prévot, 1938), l'auteur se ralliant au terme *Leptotrichia* (Trevisan, 1879) à la suite du travail de Thjötta et al. (1939). Il définit ainsi ce genre : « Bâtonnet droit, long, filamenteux, à extrémités arrondies ou effilées, immobile, non cilié, cytoplasme finement vacuolisé, non sporulé, non ramifié, renflements ovoïdes fusiformes ou sphériques se colorant en violet par l'iode, granulations métachromatiques ; Gram-négatif en général avec segments irrégulièrement Gram-positifs ». Il comprend 3 espèces anaérobies strictes : *L. innominata* Miller, *L. tenuis* Lewkowicz, et *L. vaginalis* Patocka et Reynes. Ces espèces sont différentes de *L. buccalis* Robin, aérobie facultative. D'autre part il considère le g. *Haverhillia* (*) Parker et Hudson, 1926 (espèce-type *H. moniliformis* Levaditi, Nicolau et Poincloux, 1925) comme un sous-genre de *Sphærophorus*.

Enfin, il scinde les Eubactériales anaérobies Gram-négatives en 2 familles *Parvobacteriaceæ* et *Ristellaceæ*.

La 6e édition du *Bergey's Manual* (1948) (18) n'apporte aucune modification importante à la précédente édition en ce qui concerne le contenu

(*) Synonyme postérieur de *Streptobacillus* Levaditi, Nicolau et Poincloux, 1925 (cf. Prévot (1961) (149)).

des genres *Bacteroides* et *Fusobacterium*. Ils sont inclus, non plus dans la famille des *Bacteriaceæ*, mais dans celle des *Parvobacteriaceæ* (tribu nouvelle des *Bacteroideæ*). Le genre *Leptotrichia* est inclus dans la famille des *Lactobacteriaceæ* en appendice au g. *Lactobacillus*. Les espèces *funduliformis* et *necrophorus* sont individualisées ; la première est incluse dans le g. *Bacteroides*, la seconde citée en appendice à ce même genre... *Fusocillus shmaminei* est cité en appendice au g. *Bacteroides* mais *Fusocillus girans* et *Fusocillus plauti* ne sont pas mentionnés.

Tardieux et Second (1949) (176) précisent les caractères de *Sphærophorus pyogenes* (Buday) Prévot, 1938.

Beerens et Aladame (1949) (6) décrivent une nouvelle espèce *Ristella pseudo-insolita* différant de *R. insolita* par la fétidité des cultures, l'absence de formation d'indole et un type fermentaire acéto-butyrique au lieu de formo-propionique.

Prévot, Goret, Joubert, Tardieux et Aladame (1951) (142) dans 9 cas de suppuration à grains blancs chez le chat, isolent 2 fois *Fusiformis fusiformis* et 7 fois *Fusocillus girans* ; il s'agit pour plusieurs de ces derniers de variétés atypiques.

Tardieux (1951) (177) décrit deux espèces nouvelles de *Sphærophorus* du groupe non gazogène et sérophile obligé : *Sph. abscedens* Tardieux et Monteverde et *Sph. glycolyticus* Tardieux et Ernst.

Jackins et Barker (1951) (77) isolent 7 souches de bactéries fusiformes dont 3 répondent à *Fusobacterium nucleatum* Knorr et 4 à *F. plauti-vincenti* Knorr : ils étudient les caractères biochimiques et les types fermentaires de leurs souches et, tenant compte de ces données expérimentales, envisagent de séparer ces deux espèces en rattachant *F. nucleatum* au g. *Bacteroides*, à côté des espèces *Bacteroides uncatus*, *vescus* et *exiguus*, comme l'avaient déjà suggéré Weiss et Rettger en 1937.

Martres, Brygoo et Thouvenot (1952) (111) décrivent une espèce nouvelle mobile du g. *Zuberella*, *Z. constellata*, voisine de *Z. nova* et *Z. præacuta*.

Bezjak (1952) (20) décrit une nouvelle espèce anaérobie : *Leptotrichia hæmolytica ;* il s'agit soit d'une bactérie filamenteuse, soit d'un bâtonnet à extrémités arrondies ou pointues, soit de formes courtes en navette à coloration bipolaire. Les cultures sont non sérophiles, non gazogènes, inodores et hémolytiques.

Beerens et Gaumont (1953) (8) décrivent une nouvelle espèce de *Fusiformis*, *F. hæmolyticus*, responsable d'une infection pseudoactinomycosique du lapin ; ils isolent 6 souches ; il s'agit de « bâtonnets fusiformes de grande taille, souvent filamenteux, présentant parfois des renflements et des sphéroïdes sessiles ou libres et des granulations métachromatiques ». Les cultures sont légèrement gazogènes et fétides, non indologènes, sans action sur lait, gélatine, nitrates. L'absence d'antigène commun avec *Sphærophorus funduliformis* et *Sph. necrophorus*, jointe à une morphologie

fusiforme, leur font éliminer ces souches du g. *Sphærophorus ;* ils les rattachent au g. *Fusiformis* (une souche présentait d'ailleurs un antigène commun avec *F. fusiformis*). En raison de leur pouvoir hémolytique, inhabituel dans ce dernier genre, ils considèrent qu'il s'agit d'une espèce nouvelle. Par leur pouvoir glucidolytique, quatre de leurs souches se rattachent au groupe III de Slanetz et Rettger (et au groupe IB de Spaulding et Rettger), et une au groupe II de Slanetz et Rettger.

Morris (1953) (113) étudie le mode de division des *Fusiformis* ; il les considère comme des *Eubacteriales* se reproduisant par division directe mais susceptibles de donner naissance à des formes L réversibles.

Beerens (1954) (9) montre que, à l'encontre de *Sphærophorus funduliformis*, *Sph. necrophorus* possède une hémagglutinine.

Brocard (1954) (28) à l'aide d'une souche malheureusement non conservée précise les caractères de *Fusiformis vescus* Eggerth et Gagnon : il s'agit d'un bâtonnet polymorphe donnant lieu à des cultures non gazogènes, légèrement fétides, troublant le bouillon ; cette souche est très glucidolytique, hémolytique et produit de l'H_2S ; elle est sans action sur le lait et non indologène.

Parallèlement McDonald, Knoll et Sutton (1953) (107) et Prévot, Giuntini et Thouvenot (1954) (143) étudient *Fusocillus girans* au microscope électronique et mettent en évidence l'existence d'une expansion mucilagineuse réticulée en général parapolaire, qu'ils interprètent comme l'organe de locomotion de cette espèce. McDonald et al. proposent par ailleurs d'inclure *F. girans* dans le g. *Fusobacterium.*

Wilson et Miles (1955) (194) n'admettent, pour les bactéries Gram-négatives, ni la classification du *Bergey's Manual*, ni celle de Prévot. Ils incluent dans le g. *Fusiformis* les espèces *necrophorus*, *fusiformis*, *serpens*, *fragilis*, *furcosus* et *melaninogenicus*. Ils reconnaissent que le g. *Fusiformis*, ainsi conçu, forme un groupe « évidemment hétérogène », mais le maintiennent tel parce qu'une « division définitive de celui-ci serait prématurée ». Le contenu du g. *Fusiformis* Wilson et Miles est donc différent de celui du g. *Fusiformis* Prévot, 1948 qui ne comprend que des bactéries effilées. Enfin Wilson et Miles proposent d'inclure les espèces Gram-positives du g. *Bacteroides* C. et Ch. dans le g. *Lactobacillus ;* quant à ses autres espèces Gram-négatives, elles ne sont pas mentionnées.

Mazurek (1955) (112) décrit une variété pigmentée de *Leptotrichia : L. innominata* var. *ochracea.*

Prévot, Tardieux, Joubert et de Cadore (1956) (146) étudient 14 souches de *Fusiformis nucleatus.* Signalons que parmi elles 6 seulement sont nitratoréductrices, que leur acide volatil principal est l'acide propionique, le deuxième étant par ordre de fréquence : valérianique, butyrique ou formique. Ils notent l'absence d'acide acétique, ce qui différencie cette espèce de *F. fusiformis* produisant les acides acétique et butyrique (135). Ils

décrivent une variété ocre : *F. nucleatus* var. *ochraceus* (non fétide, non indologène, produisant les acides formique, propionique et lactique).

Dans la 7e édition du *Bergey's Manual* (1957) (18), toutes les bactéries anaérobies Gram-négatives sont groupées dans les Eubactériales en une famille nouvelle, celle des *Bacteroidaceæ*. Les genres *Bacteroides* et *Fusobacterium* contiennent des espèces mobiles *(B. serpens, B. variegatus, F. praeacutum)*. Seuls sont conservés les genres *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Dialister*, *Sphærophorus* et *Streptobacillus*. Tous les autres genres sont supprimés, en particulier les g. *Pasteurella*, *Fusocillus*, *Leptotrichia ;* de nombreuses espèces sont omises.

Prévot (1957) (141) et 1961 (149) maintient sa conception antérieure relative à ce groupe : le premier critère de différenciation entre les espèces Gram-négatives reste l'absence ou la présence d'ébauches de ramifications et de sphéroïdes, ce qui lui permet de les séparer en deux sous-embranchements : *Eubacteria* et *Mycobacteria* où elles sont respectivement incluses dans deux ordres *Bacteriales* (famille des *Parvobacteriaceæ* (*) et des *Ristellaceæ* (**)), et *Actinobacteriales* (famille des *Sphærophoraceæ*). C'est cette nomenclature que nous avons utilisée dans ce travail et dans l'impossibilité de la résumer, nous renvoyons le lecteur aux ouvrages cités ; voir également dans le texte les caractères différentiels des espèces étudiées ici (tableaux 22, 23, 24 et 28).

Beerens, Guillaume et Petit (1959) (11) étudient la fermentation propionique de la L(—)thréonine de 45 souches anaérobies non sporulées Gram-négatives. Ils distinguent 4 types en fonction de la vitesse de la réaction et de ses produits terminaux (acide cétonique ou acide propionique) ; une corrélation peut en général être établie pour une même souche entre cette propriété et le type fermentaire en bouillon.

Krassilnikov (1959) (88) rattache la plupart des bactéries anaérobies Gram-négatives asporulées au g. *Pseudobacterium* Krassilnikov (*Actinomycetes*, ordre des *Mycobacteriales*, famille des *Mycobacteriaceæ*) : elles voisinent dans ce genre avec les aérobies Gram-positifs ou négatifs les plus variés (*Bacillus mallei*, *Nitrobacter*, *Cellulomonas*, etc.). Quelques autres espèces sont rattachées aux *Eubacteriales (Eubacteriaceæ)* dans le g. *Bacterium* (espèces *melaninogenicum*, *pneumosintes*, *halosepticum*, *mucosum*, *zoogleiformans*, *granuliformans*), ou dans le g. *Fusobacterium* (espèces *plautivincenti*, *biacutum*, *dentium*, *nucleatum*, *polymorphum*... alors que les espèces *termitidis* et *hilli* sont rattachées au g. *Pseudobacterium*).

(*) Les g. *Pasteurella* et *Dialister* sont inclus à l'intérieur de la famille des *Parvobacteriaceæ* dans, respectivement, la tribu des *Pasteurelleæ* Castellani et Chalmers et celle des *Hæmophileæ*.

(**) Les g. *Ristella*, *Zuberella* et *Capsularis* constituent la famille des *Ristellaceæ*.

Omata (1959) (119) précise les besoins nutritionnels de *Fusobacterium nucleatum*, Lev (1958) (101) et (1959) (102) ceux de *Fusiformis nigrescens*, Gibbons et McDonald (1960) (60) ceux de *Bacteroides melaninogenicus*, Tamimi et al. (1960) (175 *b*) ceux de *Bacteroides fragilis*.

Beerens et Castel (1960) (12) étudient l'action de la bile sur les bactéries Gram-négatives. Certaines sont favorisées *(Ristella convexa, incommunis, variabilis, uncata, fragilis, tumida, vulgata)*, d'autres inhibées partiellement ou totalement *(Fusiformis fusiformis, nucleatus, polymorphus)*. La bile est enfin sans action sur *Sphærophorus funduliformis, necrophorus, freundi* et *Fusiformis biacutus*. Les auteurs croient donc possible d'individualiser un groupe de « *Bacteroides* favorisés par la bile » et voient là un argument en faveur du regroupement de ces espèces en un seul et même genre.

Hampp, Scott et Wyckoff (1960) (69) étudient au microscope électronique *Fusobacterium nucleatum* et *F. polymorphum* et y décèlent des formations pseudo-flagellaires.

Baird-Parker (1960) (1) étudie 237 souches de fusiformes dont la grande majorité appartient aux espèces *Fusobacterium nucleatum* et *F. polymorphum*. Quelques-unes sont rattachées à *Fusiformis fusiformis* Prévot et Taffanel (1942) mais l'auteur ne reconnaît pas cette espèce comme valable ; elle serait, selon lui, identique à *F. polymorphum*. Un autre argument lui semble en faveur de l'identité de ces deux espèces : leurs parois contiennent du glucose, seul ou associé à du galactose, alors que celles de *F. nucleatum* contiennent toujours une grande quantité de galactose. Il rattache les espèces mobiles à deux genres différents : *Selenomonas (S. sputigena)* et *Fusocillus (F. girans)*. D'après lui, *S. sputigena* (Flügge) von Prowasek est identique à *F. plauti* (Plaut) Prévot. Cet auteur considère que les fusiformes sont des Actinomycètes ayant perdu un certain nombre de leurs caractères par parasitisme.

Omata et Braunberg (1960) (120), au contraire, proposent de réunir en une espèce commune *Fusobacterium nucleatum* et *F. polymorphum*, en raison de caractères culturaux et biochimiques voisins.

Lessel (1960) (100) étudiant la validité des divers genres des Actinomycétales, considère comme légitimes les genres *Sphærocillus* Prévot, *Fusocillus* Prévot, *Leptotrichia* Trevisan et *Fusiformis* Hoelling ; mais, pour ce dernier genre, il estime que l'espèce-type doit être *F. termitidis* Hoelling et non *F. fusiformis* (Topley et Wilson) Prévot ou *F. dentium* (Hoelling) Kluyver et van Niel, 1936. Il rejette le genre *Ristella* Prévot, 1938 en tant qu'homonyme postérieur du genre *Bacteroides* Castellani et Chalmers (*), et le genre *Sphærophorus* Prévot, 1938, en raison de son homo-

(*) Voir la remarque p. 17.

nymie avec *Sphærophorus* Persoon, 1794 désignant un lichen (*) ; il considère que le premier terme légitime pour désigner ce groupe bactérien est *Necrobacterium* Lahelle et Thjötta, 1945.

Gräf (1961) (64) isole de la cavité buccale humaine dix souches anaérobies Gram-négatives hétérotrophes, non cellulolytiques, mobiles, possédant de nombreux sphéroïdes, et il ne parvient pas à mettre en évidence les cils ; il les considère identiques à *Fusocillus girans* Prévot, mais estime qu'il s'agit de *Myxobacteriales* en raison de l'absence de ciliature et de paroi cellulaire et en raison de leur flexibilité. Il propose pour elles un nouveau genre *Sphærocytophaga* comprenant deux espèces nouvelles *filiformis* et *fusiformis*, différenciables par leur morphologie plus ou moins effilée.

B. — LA FLORE GRAM-NÉGATIVE DE L'INTESTIN POSTÉRIEUR DES TERMITES

Des bactéries Gram-négatives fusiformes, révélant leur appareil nucléaire avec les colorants usuels, sont observées par Hoelling (1910) (73) dans le contenu intestinal de termites dont la position systématique n'a pas été précisée par l'auteur (**). Ces bactéries n'ont pas été cultivées, mais ont été à l'origine des termes nouveaux proposés par Hoelling, *Fusiformis* (g. nv.) et *F. termitidis* (n. sp.).

Duboscq et Grassé (1926) (54) étudient *Devescovina hilli*, protiste parasite des termites français : si les formes jeunes sont toujours nues, au cours de leur croissance elles se recouvrent, lorsqu'elles dépassent 25 μ, de spirochètes *(Treponema hilli)*, et au-delà de 35 μ, de fusiformes dont la disposition est caractéristique de l'espèce de protiste considérée : ils sont, chez *Devescovina hilli*, disposés en rangées de bâtonnets de direction quelconque alors que chez *Devescovina striata* ils forment des bandes longitudinales (appelées « côtes », « cils », « stéréocils »). L'ensemble des ectoparasites constitue la « vêture schizophytique » de ces protistes. Ces auteurs distin-

(*) Cet auteur fait appel à la règle 24 (§ 4) du Code de nomenclature bactérienne (45). Voir la position de Prévot (1957) (141) : le terme *Sphærophorus* a été utilisé auparavant pour désigner un lichen, mais ceci ne constitue pas un genre valable puisque, d'après le code de nomenclature botanique, le nom légal d'un lichen est composé des noms botaniques de chacun des symbiotes : le nom de l'algue et celui du champignon ; le terme *Sphærophorus* reste donc vacant comme terme générique bactériologique et n'est en rien illégitime. Dans le traité récent de botanique de Chadefaud et al. (1960) (37 *b*), le terme *Sphærophorus* Persoon n'est pas même mentionné.

(**) Il s'agit certainement de termites inférieurs puisqu'ils possédaient des flagellés.

guent deux types de fusiformes : un type long (*Fusiformis termitidis* Hoelling), et un type court de 3 μ au plus, dont les éléments sont, soit isolés, soit réunis en 2 à 20 éléments (*Fusiformis hilli* Duboscq et Grassé n. sp.).

Duboscq et Grassé (1927) (55) retrouvent ces deux types de fusiformes chez *Calotermes iridipennis (Calotermitidæ)* protermite d'Australie et notent que chez celui-ci et chez les termites européens, se trouvent parfois de petits éléments de 2,5 μ avec un corpuscule chromatique antérieur ou médian.

Depuis cette époque, les espèces *Fusiformis termitidis* Hoelling et *Fusiformis hilli* Duboscq et Grassé sont admises par les zoologistes (Grassé, 1949 (65)), mais leur existence est très fortement controversée par les bactériologistes.

Plusieurs auteurs ont cherché à cultiver à partir du contenu intestinal de termites des bactéries cellulolytiques aérobies ou anaérobies : Cleveland (1924) (43) n'obtient pas de culture à partir de *Calotermitidæ*, *Rhinotermitidæ* et *Mastotermitidæ*. Beckwith et Rose (1929) (5) obtiennent quelques cultures positives en aérobiose mais il semble s'agir de contaminations (49) ; Dickman (1931) (49) n'isole pas de cellulolytiques aérobies, ou anaérobies, mésophiles ou thermophiles chez différentes espèces de *Reticulitermes* et *Termopsis*. Cleveland, déjà cité, notait qu'en présence de dextrose ou d'autres glucides on obtient un abondant développement microbien. Mais personne n'a étudié cette flore non cellulolytique.

A partir de la 5e édition, les auteurs du *Bergey's Manual*, sans citer de travaux précis, nient la parenté de *Fusiformis termitidis* avec les fusiformes d'origine humaine et admettent qu'il s'agit vraisemblablement de *Cytophaga*. Dans la 6e édition, ces auteurs écrivent : « The termites organisms live in the intestinal tract bathed in digested wood and have the microscopic appearance of the cellulose-destroying *Cytophaga* Winogradsky ». Ils ajoutent par ailleurs que, selon Stanier (1940) (171), les *Cytophaga* sont des Myxobactériales, mais ce dernier auteur n'a jamais recherché la présence de *Cytophaga* chez les termites. Cette identification des fusiformes des termites aux *Cytophaga* repose donc sur un simple aspect microscopique ; comme nous venons de le rappeler, elle n'a jamais été confirmée par un travail expérimental valable.

Mais il en est de même quant à l'attitude opposée : on ne peut pas affirmer qu'il existe dans l'intestin des termites inférieurs des bactéries voisines des fusiformes d'origine humaine, c'est-à-dire anaérobies strictes et cultivables sur milieux complexes. Ceci est possible en raison des échecs d'isolement de cellulolytiques et puisque, selon l'opinion la plus généralement admise (67), chez les termites inférieurs les bactéries n'interviennent pas — du moins au premier degré — dans la digestion de la cellulose. Mais les bactéries fusiformes vraisemblablement non cellulolytiques

observées par Hoelling pourraient être incultivables sur nos milieux bactériologiques usuels parce qu'il s'agirait de symbiotes obligés des flagellés...

C. — SPÉCIFICITÉ DE LA COMPOSITION EN BASES DE L'ADN ET SON UTILISATION EN SYSTÉMATIQUE

Nous admettons que la structure générale de la molécule d'ADN et de ses sous-unités les nucléotides est connue. Rappelons pour mémoire que, selon le modèle de Watson et Crick (1953) (188), une fibre de désoxyribonucléinate de sodium est formée de deux chaînes hélicoïdales de polydésoxyribose-phosphate enroulées autour d'un même axe ; elles sont toutes deux d'enroulement dextre mais progressent en sens inverse. Les deux chaînes sont reliées entre elles par les bases puriques et pyrimidiques, le plan des bases étant perpendiculaire à l'axe de la fibre. Les bases sont unies par une liaison hydrogène.

1° Relations quantitatives entre les bases de l'ADN.

L'appariement obligatoire d'une base purique avec une base pyrimidique dans le modèle de Watson et Crick rend bien compte des résultats expérimentaux obtenus tout d'abord par Chargaff et ses collaborateurs, résultats qui ont d'ailleurs contribué à l'élaboration même de ce modèle. Citons Vischer, Zamenhof et Chargaff (1949) (187), Chargaff (1950) (38), (1951) (39), (1955) (40), (1957) (41), Wyatt (1951) (199), (1952) (200) (1955) (201), Smith et Wyatt (1951) (168), Zamenhof, Brawerman et Chargaff (1952) (202). Ces auteurs ont été les premiers à montrer que, par évaluation spectrophotométrique des bases puriques et pyrimidiques d'ADN d'origine microbienne, virale, animale ou végétale, certains rapports moléculaires s'avèrent constants, toujours égaux à l'unité : A/T G/C, (G + A)/(C + T) (*) ; par contre, ils observent des variations impor-

(*) Lorsqu'une petite fraction de l'une de ces quatre bases est remplacée par une « base satellite » cette équivalence moléculaire est encore retrouvée, la « base satellite » remplaçant la base correspondante molécule à molécule : Lipshitz et Chargaff (1956) (105) ont par exemple montré que dans l'ADN de germe de blé, cytosine + méthyl-cytosine = guanine (valeurs exprimées en molécules %), tant dans l'ADN total qu'après fractionnement. Signalons cependant l'exception observée par Dunn et Smith (1958) (56) dans le cas d'incorporation de 6 méthylaminopurine dans divers ADN : l'équivalence moléculaire préalablement rappelée peut faire défaut, un analogue de l'adénine étant capable de se substituer partiellement à la thymine.

tantes du rapport (A + T)/(G + C) selon le groupe considéré. Les valeurs extrêmes actuellement connues (97) sont 0,39 *(Micrococcus lysodikticus)* et 2,7 *(Welchia perfringens)*.

— Les animaux et végétaux possèdent des ADN avec prédominance de (A + T) sur (G + C), c'est le type AT ; il existe entre eux des variations de ce rapport, mais sans aucune corrélation avec leur position systématique (Chargaff, 1955 (40)).

— Chez les bactéries ou bactériophages, au contraire, ce même rapport est susceptible de très larges variations : certains sont de type AT (*Bacillus* Schatz, bactériophage T_5), d'autres de type GC ((A + T)/(G + C) < 1) *(Mycobacterium tuberculosis, Serratia marcescens)*, d'autres enfin de type intermédiaire ((A + T)/(G + C) voisin de 1), c'est le cas de *Escherichia coli*. Ils en concluent que chez les bactéries ce coefficient a une valeur caractéristique d'espèce.

L'étude de la spécificité de ce rapport a été poursuivie par plusieurs auteurs qui ont vérifié ces faits sur un grand nombre d'espèces bactériennes et montré quelles conséquences taxinomiques on peut en tirer. Nous rappellerons les travaux les plus importants : Lee (1956) (96), Lee, Wahl et Barbu (1956) (97), Barbu (1957) (2), Belozersky (1957) (14), Belozersky et Spirin (1960) (15), Marmur et al. (1961) (109), Schildkraut et al. (1961) (157). Pour une bibliographie complète de tous les auteurs ayant apporté leur contribution à cette étude, nous renvoyons le lecteur à Belozersky et Spirin (1960), déjà cités. Ces derniers, dans une mise au point de l'intérêt de la connaissance du rapport (A + T)/(G + C) en taxinomie, commentent les résultats obtenus avec 114 souches microbiennes dont 17 anaérobies strictes ; leurs conclusions concordent avec celles des auteurs précédemment cités :

— le rapport (A + T)/(G + C) possède une valeur spécifique, caractéristique d'espèce ;

— entre des espèces étroitement liées, les différences de composition de l'ADN sont plus faibles qu'entre espèces éloignées ;

— l'ADN des bactéries subit des variations d'espèce à espèce révélant leur diversité ;

— il n'existe pas de différence liée au caractère Gram-positif ou Gram-négatif, aéro ou anaérobie.

L'étude de 13 familles microbiennes leur permet de conclure au « rôle très prometteur de la connaissance de la composition de l'ADN chez les bactéries quant à leur systématique et à leur phylogénie » :

— parmi les bacilles Gram-négatifs : sont de type GC *Pseudomonadaceæ*, *Achromobacteriaceæ*, *Azotobacteriaceæ* ; sont de type AT *Brucellaceæ* et *Bacteroidaceæ* ; sont de type intermédiaire les *Enterobacteriaceæ (Serratia, Azotobacter, Erwinia, Salmonella, Shigella, Escherichia, Proteus morganii)*.

Leur coefficient (A + T)/(G + C) varie de 0,7 à 1,0 avec une valeur inférieure de 0,69 pour *Serratia marcescens* ;

— parmi les bactéries Gram-positives : sont de type GC les genres *Micromonospora*, *Nocardia*, *Streptomyces*, *Corynebacterium* ; les genres *Clostridium* et *Welchia* sont de type AT extrême ((A + T)/(G + C) > 2), le g. *Bacillus* est de type AT (< 2) ;

— parmi les Cocci : sont de type GC les *Micrococcaceæ (Sarcina*, *Micrococcus lysodikticus)*, de type AT les *Staphylococceæ*, *Streptococceæ* et le g. *Veillonella*, de type intermédiaire le g. *Neisseria*.

Quelques-uns de ces résultats sont résumés dans le tableau 3.

TABLEAU 3. — *Quelques teneurs (A + T)/(G + C) de bactéries aérobies ou anaérobies.*

Enterobacteriaceæ, Rhizobiaceæ Pseudomonadaceæ :

Salmonella typhimurium, 0,85 (14), 0,99 (97).
» *enteritidis*, 1,00 (97).
» *paratyphi* A, 1,00 (97).
» *gallinarum*, 0,99 (97).
Shigella paradysenteriæ Flexner Y6 RO, 1,02 (97).
Escherichia coli 15 T⁻, 0,86 (56).
» SM, 0,91 (15).
» T⁻ (sphéroplastes), 0,93 à 0,94 (41).
Proteus morganii, 0,89 (15).
» *vulgaris*, 1,47 (15), 1,74 (97).
Serratia marcescens, 0,69 (202), 0,72 (97).
Erwinia carotovora, 0,85 (15).
Agrobacterium tumefaciens, 0,71 (97).
Pseudomonas tabaci, 0,48 (97).
» *aeruginosa*, 0,51 à 0,56 (97).
» *fluorescens*, 0,59 (97).

Cocci :

Sarcina lutea, 0,35 (57), 0,38 (15), 0,56 (97).
» *flava*, 0,46 (97).
Micrococcus lysodikticus, 0,39 (97).
Neisseria gonorrhœæ, 1,01 (97).
» *meningitidis*, 1,00 (97).
Veillonella parvula, 1,74 (97).
Streptococcus fæcalis (gr. D), 1,89 (97).
Micrococcus asaccharolyticus, 1,91 (97).
» *pyogenes* Oxf., 2,26 (97).
» *pyogenes m* 320, 2,13 (97).

Actinomycétales Gram-positives :

Streptomyces globisporus, 0,36 (15).
» *griseus*, 0,37 (15).
Nocardia citrea, 0,39 (15).
Micromonospora cœrulea, 0,39 (15).
Mycobacterium tuberculosis aviaire, 0,42 (187),
» *tuberculosis* BCG, 0,47 (15).
» *tuberculosis* bovin, 0,48 (15).
» *tuberculosis* humain, 0,61 (168).
Bifidobacterium bifidum, 0,74 (97).
Corynebacterium parvum, 0,72 (97).
Corynebacterium diphteriæ, 0,83 (15), 0,92 (97).
» *acnes*, 1,08 (97).

Il existe cependant quelques exceptions, notées d'abord par Lee, Wahl et Barbu (1956) (97) : *Micrococcus lysodikticus*, *Proteus vulgaris*,

Fusiformis polymorphus et *Ristella clostridiiformis ;* elles ont permis à ces auteurs de douter de la validité de la position taxinomique de ces espèces. Certaines de ces exceptions confirment l'opinion de Prévot relative à leur position systématique, et cet auteur a récemment insisté sur l'intérêt de ce critère en taxinomie (147) (149). Plusieurs travaux doivent être cités :

1) *Micrococcus lysodikticus* ((A + T)/(G + C) = 0,39 (97)) diffère des autres espèces du g. *Micrococcus* chez lesquelles ce rapport est voisin de 2 ; son rapport est au contraire proche de celui de *Sarcina flava* (0,46) (97) et de *Sarcina lutea* (0,56) (97). Or Prévot rattachait depuis 1948 (141) l'espèce *lysodikticus* au g. *Sarcina* en raison du mode de groupement des éléments. Les travaux de Lee et al. justifient son attitude. L'étude conjointe des caractères morphologiques, biochimiques et du rapport (A + T)/(G + C) de *Micrococcus lysodikticus* permet à Colobert et Rocquet (1957) (46) d'établir qu'il s'agit d'une variété de *Sarcina flava. Neisseria catarrhalis* ((A + T)/(G + C) = 1,40) diffère de six autres espèces de *Neisseria* ((A + T)/(G + C) = 1,0) (Catlin et Cunningham, 1961 (37 *a*)) ; or des transformations interspécifiques sont possibles entre les 6 espèces de même teneur en bases, mais non entre ces espèces et *N. catarrhalis.* « Le genre *Neisseria* est illogique du point de vue évolutif », concluent ces auteurs.

2) *Proteus vulgaris* ((A + T)/(G + C) = 1,74 (97) ou 1,47 (14)) diffère de *Proteus morganii* (0,88) (14) et de l'ensemble des Entérobactéries chez lesquelles ce même rapport varie de 0,8 à 1,0. Belozersky depuis 1957 (14) se demande donc s'il est correct de réunir dans un même genre *Pr. morganii* et *Pr. vulgaris* et quel est le degré réel de parenté de *Pr. vulgaris* avec la plupart des représentants de la famille des *Enterobacteriaceæ.* Falkow et al. (1962) (59 *a*) soulignent que *Aerobacter aerogenes* et *Serratia marcescens* diffèrent des Entérobactéries typiques par leur teneur (G + C) % élevée et que *Proteus vulgaris, mirabilis, rettgeri* et les Providence en diffèrent au contraire par une (G + C) % faible.

3) Les différences de valeur (A + T)/(G + C) entre *Fusiformis polymorphus* (0,70) et *F. fusiformis* (2,17) d'une part, *Ristella insolita* (1,39) et *R. clostridiiformis* (2,20) d'autre part, ont été observées et commentées par Lee et al. (97) et par Prévot (147) : ces « exceptions » sont peut-être la preuve de ce que les nombreuses incertitudes concernant la systématique de ce groupe ne sont pas injustifiées. Nous avons rappelé celles-ci dans la première partie de ce chapitre. Essayer de voir si la connaissance du rapport (A + T)/(G + C) pour l'ensemble des espèces bactériennes Gram-négatives anaérobies permet d'interpréter ces exceptions est l'un des buts de ce travail.

En ce qui concerne les variations possibles de ce rapport entre souches d'une même espèce, Lee, Wahl et Barbu (97) observent que ce rapport est constant, aux erreurs d'expérience près, dans tous les cas, aussi bien pour les souches sauvages que pour leurs mutants (par exemple, souches exigeant ou non de l'acide nicotinique, sensibles ou résistantes à un bactériophage ou à un antibiotique donné...). Sueoka (1961) (175 *a*) aboutit à une conclusion identique.

2° *Invariabilité du rapport (A + T)/(G + C) en fonction des conditions d'expériences.*

Ceci est un fait acquis et nous le rappellerons seulement. Chez *Bacillus cereus*, le rapport (A + T)/(G + C) ne varie pas sous l'influence de la composition du milieu (synthétique ou complexe), du stade de croissance, du stade de sporulation (Stuy, 1958 *a* (174)), d'une irradiation par les rayons ultra-violets (Stuy, 1958 *b* (174)). Les mêmes résultats sont obtenus par de nombreux auteurs en faisant varier l'âge des cultures de diverses espèces ; citons les travaux sur *Escherichia coli* (Smith et Wyatt, 1951 (168), Lee et al., 1956 (97)), *Salmonella enteritidis* et *Streptococcus pyogenes* (Lee et al. déjà cités), *Sarcina lutea* (Dutta et al., 1956 (57)).

Rappelons que, pendant la phase logarithmique de croissance, taux d'ADN total et croissance totale augmentent parallèlement. Le contenu d'ADN par cellule double juste avant une division cellulaire, mais en dehors de ce stade la quantité d'ADN par cellule est constante (elle varie seulement dans le cas de non-segmentation d'une cellule équivalant à la polyploïdie des êtres supérieurs). Cette donnée n'est donc d'aucun intérêt dans la connaissance systématique d'un groupe.

DEUXIÈME PARTIE

TRAVAUX PERSONNELS

A. — TECHNIQUES

En ce qui concerne les milieux et procédés courants d'isolement et de détermination des bactéries anaérobies, nous renvoyons le lecteur à Prévot (1956) (145) et (1960) (148), mais nous rappellerons quelques techniques particulières.

1° Milieux d'isolement et de culture.

A côté des milieux ordinaires complexes couramment utilisés pour l'étude des bactéries anaérobies, nous avons tenté d'isoler des bactéries provenant de termites sur des milieux spéciaux : on sait en effet que certains germes sont inhibés par certaines peptones ou géloses, que d'autres ont besoin pour leur croissance de cellulose, de chitine ou d'un extrait de leur substrat naturel (extrait de terre, extrait fécal, liquide de rumen, etc.).

α) Milieux usuels : le milieu usuel de base est le milieu VF dérivé du milieu de Stickel et Mayer et modifié par Prévot et Boorsma en 1939. Rappelons qu'il est obtenu par digestion chlorhydropepsique de viande et de foie de bœuf à 48°. Ce bouillon est glucosé à 2 0/00 lorsqu'il est utilisé à des fins d'isolement ou de subculture et à 10 0/00 lorsqu'il doit permettre l'étude des produits terminaux du métabolisme ou l'obtention de quantités importantes de corps microbiens. Le rôle du glucose dans le développement des germes anaérobies est connu depuis Pasteur qui ajoutait systématiquement du glucose aux milieux pour anaérobies. Son mécanisme d'action est resté longtemps méconnu mais, depuis les travaux de Wurmser, Von Euler et Martius, on sait que le glucose en milieu légèrement alcalin et en présence des substances du bouillon est transformé entre

100-110° en réductone (diénol de l'aldéhyde tartronique) qui abaisse le Eh du milieu.

Les isolements sont réalisés sur milieu VF glucosé à 2 0/00 et gélosé à 8 0/00 réparti dans des tubes de 8-10 mm de diamètre (5 ml de milieu par tube). Les milieux liquides sont répartis en tubes de 12 mm de diamètre, faciles à sceller sous vide ou en tube de Hall, ballons de Jaubert et Gory, fioles d'Erlenmeyer, « goulots » de 5 litres (la forme de ces quatre derniers récipients a l'avantage de conférer aux milieux un rapport « surface/volume » relativement faible (< 1) permettant de ne pas réaliser un vide sus-jacent).

Enfin ces divers milieux sont fréquemment additionnés de sérum de cheval inactivé par trois chauffages successifs à 56° : le sérum agirait par l'apport de facteurs de croissance, ou en adsorbant des substances présentes à doses infinitésimales dans les milieux, mais toxiques pour certains germes, ou en abaissant le Eh.

β) Milieux spéciaux. — Il n'était pas obligé que les bactéries fusiformes de Hoelling soient des hétérotrophes non spécialisés. Nous avons donc été amenés à ensemencer les prélèvements initiaux sur divers milieux. Comme nous le verrons plus loin, l'utilisation de ces milieux ne s'est pas révélée d'un intérêt majeur dans le présent travail ; nous les citerons donc seulement :

— milieu liquide à la cellulose (Pochon, 1954 (127), p. 66) ;

— milieux gélosés à la cellulose précipitée par l'acide sulfurique selon la technique de Harmsen (Pochon (127)) et incluse dans un milieu type Bryant (1953) (32), 1956 (33) ;

— milieu de Benton à la chitine précipitée (Benton, 1935 (17)) ; ce milieu peut être additionné ou non de petites quantités de peptone ;

— milieu usuel additionné d'extrait de panse rectale de termite, stérilisé par filtration sur bougie L_3 ;

— milieu de Pillot et Faure (126) (milieu type Brewer à l'acide thioglycolique).

Rappelons que, dans la technique pasteurienne, les milieux utilisés sont, avant ensemencement, « régénérés » par ébullition à 100° pendant 20 minutes et que l'anaérobiose est réalisée pour les milieux liquides en tube de 12 mm par voie mécanique, à l'aide d'une pompe à vide électrique. Pour les autres récipients et les milieux solides, la « réaération » du milieu est retardée en raison du faible rapport S/V : il est inutile de réaliser un vide sus-jacent. On obtient ainsi dans les deux cas un Eh voisin de —0,230 mV qui permet le « départ » de la majorité des bactéries anaérobies.

2° Technique du prélèvement du contenu de la panse rectale des termites.

En dehors de quelques termites d'origine africaine (reportés d'ailleurs à part dans le tableau 5), les prélèvements n'ont été effectués que sur des termites vivants. La panse rectale est aisée à reconnaître : elle correspond au segment renflé de l'intestin postérieur et est située immédiatement au-dessous du court segment de l'intestin postérieur où débouchent les tubes de Malpighi. Le prélèvement de son contenu est effectué dans des conditions suffisantes de stérilité, comme en témoignent les cultures pures anaérobies obtenues d'emblée, en procédant de la façon suivante : avec une pince stérile tenue de la main gauche, on maintient le céphalothorax du termite dont les téguments ont au préalable été désinfectés avec de l'alcool, à 0,50 cm environ au-dessus d'une boîte de Petri stérile ; une aiguille lancéolée stérile, tenue de la main droite et prenant point d'appui sur la partie terminale de l'insecte et sur la boite de Petri, permet par ailleurs de réaliser un « étirement » du tube digestif du termite hors de la cavité abdominale. A l'aide de deux aiguilles stériles on sectionne le fragment correspondant à la panse rectale, son contenu est prélevé à l'aide d'une pipette stérile sureffilée. Par cette technique le tube digestif du termite n'entre pas en contact avec les téguments externes et les contaminations sont exceptionnelles.

3° Technique d'isolement et de détermination.

Les isolements sont réalisés en milieux solides (géloses profondes) selon la technique pasteurienne mise au point par Veillon, et qui consiste en un double passage par colonie isolée. L'isolement est réalisé à pipette fermée sur une série de douze géloses profondes préalablement régénérées et ramenées à 45°. L'inoculum initial est épuisé par agitation sur cette série de tubes qui sont aussitôt plongés dans un bain-marie froid ; les germes ainsi séparés coloniseront sur place. Bien entendu, chaque fois qu'un doute persiste quant à la pureté d'une colonie, on réalise un plus grand nombre de passages par colonie unique. Les cultures sont incubées à 37°.

Pour une description complète des techniques de détermination nous renvoyons le lecteur à Prévot (1960) (148) et nous insisterons seulement sur quelques problèmes particuliers.

Caractères morphologiques. — Ils sont toujours établis à l'aide de cultures en phase logarithmique de croissance, réalisées en bouillon ou gélose VF glucosés à 2 0/00 ; il est recommandé d'observer les caractères morphologiques d'une souche en eau peptonée, pour éviter les modifica-

tions dues à l'acidification du milieu VF ou à l'accumulation de catabolites toxiques ; ceci est cependant difficilement réalisable pour les bactéries Gram-négatives anaérobies car leur croissance est souvent lente ou nulle en eau peptonée.

La recherche des spores par le seul examen direct de lames ne suffit jamais, mais plus encore dans un groupe de morphologie aussi particulière que celui étudié ici où abondent renflements et espaces clairs simulant des spores et cependant dénués de toute thermorésistance. La mise en évidence des spores est faite par épreuve de thermorésistance : une culture est chauffée en ampoules scellées à des températures variables 60°, 80°, 100°, pendant des temps variables (1 minute à 10 minutes). Après refroidissement le contenu des ampoules est ensemencé sur milieux neufs et l'on incube à 37° pendant quelques jours. Une souche est considérée comme thermorésistante lorsqu'elle résiste à 80°.

La mobilité est généralement difficile à mettre en évidence chez les bactéries anaérobies, car elle est inhibée au contact de l'O_2 atmosphérique. Elle doit être recherchée entre lame et lamelle lutées à la paraffine ou en tubes capillaires aplatis et scellés aux extrémités. Mais on ne doit jamais se contenter du résultat de cette épreuve : pour de nombreuses souches ciliées anaérobies Gram-négatives, la mobilité est faible surtout après les premières subcultures ; on risque enfin de confondre une mobilité vraie avec des mouvements browniens lorsqu'il s'agit d'éléments coccobacillaires de petite taille. Aussi cette épreuve est-elle toujours doublée d'une *coloration de cils*. Les cils des bactéries anaérobies sont généralement mis en évidence à partir de *cultures totales* ou *centrifugées*, soit par coloration de Levenson (mordançage au No_3Ag ammoniacal) ou de Casarès-Gil, soit par examen au microscope électronique. Ces techniques donnent d'excellents résultats pour les bactéries anaérobies sporulées mais elles ont l'inconvénient de léser un appareil ciliaire fragile au cours de la centrifugation et de donner lieu à de mauvaises préparations en raison de l'adsorbtion des substances du bouillon par les corps microbiens. Le résultat est que la ciliature de certains groupes paraissant mobiles est impossible à mettre en évidence... Aussi avons-nous utilisé la technique suivante : des géloses (*) VF glucosées réparties en tubes de 12 mm sont « régénérées » par ébullition, ramenées à 45°, additionnées de sérum (**) et inclinées. Dès que le milieu est solidifié on ensemence abondamment, à l'aide d'une culture en phase logarithmique de croissance ; les tubes sont scellés sous vide et incubés à 37°. La recherche de cils est faite à l'aide des mêmes techni-

(*) Taux de gélose : 15 à 20 o/oo.

(**) Le sérum ajouté systématiquement, même pour un germe non sérophile, favorise le « départ » des cultures et permet l'obtention de façon régulière de cultures toujours abondantes en 8 à 24 heures.

ques que celles utilisées pour les bactéries aérobies. On pratique, soit une coloration de Leifson, soit un examen au microscope électronique (*). Il devient ainsi possible de mettre en évidence les cils des bactéries anaérobies là où les techniques antérieures échouaient (**).

Nous avons vérifié qu'une même souche de *Fusocillus girans*, donnant lieu à d'excellentes préparations par cette technique, ne révèle pas son appareil ciliaire à partir de cultures centrifugées ou de cultures réalisées sur géloses inclinées sous vide et colorées par la technique de Casarès-Gil. Enfin, les résultats de la coloration de Leifson et de l'examen au microscope électronique sont identiques ; nous l'avons vérifié pour plusieurs souches (monotriches, péritriches ou atriches). Dans le groupe des bactéries anaérobies Gram-négatives « mobiles », une bactérie a été considérée comme aciliée lorsque deux ou trois examens selon cette technique se sont avérés négatifs alors que, pour une souche-témoin, l'appareil ciliaire était mis en évidence dans les mêmes conditions.

— Les fermentations des glucides sont recherchées en eau peptonée additionnée de tel ou tel glucide à 1 % par mesure du pH au bout de 1, 2 et 5 jours ; l'existence d'une gélatinase est décelée sur gélatine nutritive et sur gélatine de Cohn (gélatine formolée au charbon de bois (***)) ; les protéinases sont mises en évidence sur milieux additionnés d'un fragment de protéine coagulée (cervelle, sérum, foie, blanc d'œuf, fibrine) ; la réduction des NO_3^- en NO_2^- et N_2 est recherchée sur eau peptonée nitratée à 5 0/00, celle des sulfites sur milieu de Wilson-Blair modifié (5 ml de gélose VF additionnée de 11 gouttes de sulfite de sodium à 10 % et 1 goutte d'alun de fer à 5 %). Le réactif de Fergusson permet de mettre en évidence une uréase, l'eau oxygénée — les catalases, et un papier imprégné au sous-acétate de plomb — la formation d'H_2S.

Les produits terminaux de fermentation sont recherchés par distillation en milieu alcalin ou acide de cultures de 10 jours. On peut mettre en évidence amines volatiles et fixes (réactif de Mayer, technique de Blass et Sarraff (22)), alcools, aldéhydes (réactif de Schiff), acétone (R. de Denigés), phénol, indole (****) et scatole (R. d'Ehrlich), crésol, ammoniaque, acétoïne

(*) Nous remercions le Dr. J. Giuntini qui a bien voulu se charger de l'examen de nos préparations au microscope électronique ; elles ont été réalisées dans des conditions optiques identiques à celles décrites par Prévot, Giuntini et Thouvenot (1954) (143).

(**) Il est incontestable que certaines espèces anaérobies Gram-négatives asporulées possèdent une ciliature d'une fragilité extrême, ce qui justifie les échecs de nombreux auteurs dans leur mise en évidence et explique la méconnaissance assez générale des bactéries mobiles de ce groupe.

(***) Technique de Cohn-Lautrop.

(****) La présence d'indole est également recherchée en eau peptonée (culture de 24 heures) chaque fois que cela est possible.

(technique de Lemoigne modifiée par Kluyver, Donker et Vissert'Hoff). Les acides aliphatiques volatils sont mis en évidence par la technique chromatographique d'Osteux et al. (1958) (121) modifiée par Blass (148) : le distillat acide est neutralisé en léger excès à l'aide de NaOHN en présence de quelques gouttes d'ortho-crésol-sulfone-phtaléine en solution alcoolique à 0,2 %, puis évaporé à sec et repris par 2 à 5 ml d'eau bidistillée ; l'ion Na^+ gênant sur les chromatogrammes est éliminé à l'aide d'une résine cationique sulfonée la « permutite C_{50} » (forme acide Cl^- (*)). Les acides volatils recueillis après filtration et lavage sont transformés en sels de morpholine et chromatographiés (**) : papier Whatman n° 3 ; chromatographie en phase descendante ; durée 18 à 24 heures ; solvant d'Osteux et al. (*n*-butanol : cyclohexane : propanediol 1-2 : NH_4OH 22° Bé : morpholine : eau bidistillée = 180 : 180 : 60 : 4,2 : 0,42 : 21 v/v). Les chromatogrammes sont séchés à la température du laboratoire pendant 30 minutes, puis pulvérisés avec le révélateur obtenu en mélangeant extemporanément 3 parties de solution A (ortho-crésol-sulfone-phtaléine 0,2 g, eau distillée 15 ml, NaOH N 0,3 ml, éthanol à 96° 70 ml) et une partie de solution B (véronal sodique 10 g, eau 100 ml, éthanol à 96° 150 ml).

Des chromatogrammes réalisés dans les conditions précédentes peuvent également être pulvérisés avec le révélateur de Lindqvist et Storgards (50 ml NO_3Ag 0,1 N + 50 ml NH_4OH 5 N mélangés extemporanément et pulvérisés sur les deux faces du chromatogramme ; on sèche à 100°-120° pendant 15 minutes environ : ce révélateur est spécifique de l'acide formique qui donne des taches noires de formiate d'argent et les autres acides apparaissent en blanc sur un fond ocre) ; il a l'avantage de donner des couleurs plus durables que celles du révélateur d'Osteux et al., fugaces sous l'influence du CO_2 atmosphérique ; on peut ainsi détecter avec certitude l'acide formique de Rf voisin de celui de l'acide acétique et parfois masqué par un excès de ce dernier.

Les acides fixes (lactique et succinique) extraits par l'éther en milieu acidifié par SO_4H_2 pur et repris par 0,2 ml d'eau distillée après évaporation de l'éther, sont caractérisés par la technique suivante (23) : papier Whatman n° 1 ; chromatographie descendante, durée 18 heures ; solvant-

(*) La permutite est acidifiée par un contact d'une nuit avec ClH 1,5 N ; elle est ensuite lavée dans l'eau distillée à 2 ou 3 reprises jusqu'à ce que le pH du surnageant soit à 6 et séchée ; dans ces conditions, 1 g de permutite doit fixer 2 ml de NaOH N. Connaissant par ailleurs la quantité de NaOH N qui a neutralisé le distillat, il est facile de calculer la quantité de permutite nécessaire.

(**) Les solutions sont déposées sous un volume tel que la quantité d'acide contenue corresponde au moins à celle présente dans 7,5 mm^3 d'une solution d'acide témoin N/3 ; on utilise par ailleurs des témoins latéraux (solution N/3 d'acides-témoins transformés en sels de morpholine et déposés sous le volume de 7 à 10 mm^3).

éthanol à 96° : NH_4OH 22° Bé : H_2O = 80 : 5 : 15 v/v ; révélateur de Duncan et Priori (200 mg de rouge de méthyle et 200 mg de bleu de bromothymol sont dissous dans 100 ml de formol et 400 ml d'éthanol à 96° ; ajuster à pH 5,2 avec NaOH 0,1 N). Le chromatogramme imprégné de révélateur est enroulé et placé dans un cylindre saturé en vapeurs d'NH_3 ; on obtient ainsi des taches rouges sur fond vert ; on a réalisé parallèlement des témoins latéraux et internes d'acides lactique et succinique (acides en solution à 2 % dans de l'acétone à 50 % dans l'eau). La sensibilité de cette technique est supérieure à 50 µg d'acide lactique ou succinique. L'acide lactique peut également être décelé à l'aide d'acide sulfurique et d'alcool gaïacolé ; mais pour l'acide succinique aucune réaction chimique n'est assez sensible.

4° *Teneur en bases puriques et pyrimidiques de l'ADN.*

La composition en bases de l'ADN ne varie pas en fonction du temps et de la composition du milieu. Les cultures de bactéries anaérobies sont donc réalisées en vue de l'obtention d'une quantité maxima d'ADN (cultures de 12 à 48 heures en bouillon VF glucosé à 10 0/00 préalablement régénéré, refroidi et additionné de sérum pour les germes sérophiles). Signalons le rôle du volume de l'inoculum : certaines espèces (*Fusiformis nucleatus* var. *ochraceus*, *Sphærophorus abscedens*, *Sph. freundi*, *Sph. glycolyticus*) ne donnent un rendement en corps microbiens suffisant que si l'inoculum est de 5 à 10 %. Les cultures sont incubées à 37° et centrifugées en phase logarithmique de croissance à 20 000 g.

Malgré les travaux de Spirin et al. (1957 et 1958), cités par Belozersky et al. (1960) (15), qui font état de variations considérables de la teneur en bases de l'ADN chez des mutants d'Entérobactéries différant du type primitif par leur pouvoir glucidolytique (cultures impures, erreur technique ?), on peut admettre que les mutants ou formes diverses (41) obtenues à partir d'une souche donnée ont conservé une teneur (A + T)/(G + C) identique à la teneur initiale. Parmi les souches ici étudiées un grand nombre possédait des « formes anormales » (formes filamenteuses, sphéroïdes) ; comme la présence de celles-ci s'est avérée souvent liée à une teneur (A + T)/(G + C) élevée, il était indispensable de vérifier que les formes « anormales » n'étaient pas à l'origine d'une modification de la composition en bases de l'ADN. Ceci peut être infirmé de façon absolue puisque, pour une espèce donnée, une même teneur (A + T)/(G + C) est obtenue, que les souches ne possèdent pas ou possèdent 5-50 ou 100 % de formes « anormales » au moment où leur ADN a été extrait (ex. *Sphærophorus ridiculosus*, *funduliformis*, *varius* var. *sulfitoreductans*).

a) Extraction et purification de l'ADN

1° Technique (I) (technique de Lee) (96). — Le culot bactérien est lavé à froid avec une solution de ClNa 0,14 N et de citrate de Na 0,01 M (inhibiteur de la désoxyribonucléase), puis déshydraté et délipidé par lavages successifs dans l'éthanol à 80°, 96°, 100°, l'éther et par chauffage en étuve à 100° pendant 5-6 heures. La paroi est détruite par broyage des corps microbiens en présence de poudre de quartz et l'ARN détruit par hydrolyse alcaline selon la technique de Smith et Wyatt (1951) (168) ; hydrolyse à 37° pendant 18 heures par NaOH à raison de 7 à 10 ml de NaOH N par gramme de bactéries sèches.

Les surnageants de l'extraction par la soude et de deux lavages avec une solution de ClNa M sont réunis, amenés à pH 4 à l'aide d'acide acétique pur, refroidis à + 4° et précipités par 2 volumes d'éthanol à 96° ; on laisse précipiter pendant quelques heures en glacière, et après centrifugation le précipité est remis en suspension dans une solution de ClNa M pH 9,5. L'extrait d'ADN ainsi obtenu est déprotéinisé selon la technique de Sevag : la solution aqueuse est additionnée d'un quart de son volume du mélange chloroforme 8 vol., alcool octylique 1 vol., centrifugée à 6 000 g après une agitation mécanique de 10 minutes ; le surnageant est décanté. Cette opération est recommencée jusqu'à ce qu'il ne se forme plus de disque de gel de protéine à la surface du chloroforme (5 à 30 agitations sont nécessaires selon l'espèce considérée).

Après déprotéinisation, la solution d'ADN est acidifiée à pH 4 à l'aide d'acide acétique, précipitée à froid par 2 volumes d'éthanol à 96° et mise à + 4° pendant quelques heures (selon le degré de polymérisation de l'ADN celui-ci précipite plus ou moins rapidement ; il vaut mieux cependant ne pas laisser la solution dans ces conditions trop longtemps, car des polysaccharides parfois présents en petites quantités précipitent aussi, mais plus lentement). Le précipité obtenu est lavé dans l'éthanol à 70°, déshydraté dans l'éthanol à 96°, 100°, puis dans l'éther ; le précipité blanc plus ou moins fibreux ainsi obtenu est desséché pendant 1 heure à 56°, pesé (pour évaluer la quantité qui devra être déposée sur les chromatogrammes) et mis dans un tube à hydrolyse.

Cette technique donne d'excellents résultats mais elle a l'inconvénient d'être longue ; aussi préférons-nous actuellement la méthode suivante, dérivée de celle utilisée par Huppert et Rebeyrotte (1960) (75) pour l'obtention d'acides nucléiques doués de propriétés biologiques, et adaptée ici à l'obtention d'ADN pur (*).

(*) Nous remercions E. Barbu qui nous a dirigés dans l'utilisation de cette technique.

2° Technique (II). — Les corps microbiens recueillis dans les conditions précédentes sont broyés au mortier pendant 5 minutes environ en présence de poudre de quartz, puis additionnés d'une solution tampon phosphate 0,02 M-versène (*) 0,01 M, pH 7,2 (cette solution est utilisée à + 4° et à raison de 20 à 40 ml environ par gramme de corps bactériens humides) ; on rajoute du laurylsulfate de sodium en solution à 20 % jusqu'à la concentration finale de 0,4 %. La solution ainsi obtenue devient visqueuse, ce qui témoigne de la lyse de la paroi cellulaire et de la libération de son contenu ; si la paroi bactérienne résiste à l'action conjointe du versène et du détergent, on peut conserver cette solution quelques heures à 0°, ou la porter à une ou plusieurs reprises à — 60° pour faciliter l'éclatement des parois. On centrifuge à froid à 6 000 g pendant 5 minutes, le surnageant contient l'ADN ; il est déprotéinisé par l'addition d'un volume égal de phénol (**) saturé d'eau refroidi à + 4° ; après agitation mécanique pendant 10 minutes, la solution est centrifugée pendant 5 minutes à 6 000 g. La purification par le phénol est ainsi répétée à 3 reprises (davantage si cela est nécessaire). Toute trace de phénol est extraite du liquide surnageant par agitation avec de l'éther suivie de l'élimination de la phase éthérée.

L'extrait aqueux d'acides nucléiques ainsi obtenu est alcalinisé à pH 11,5 avec NaOH N et hydrolysé à 37° pendant 18 heures pour détruire l'ARN (***), acidifié à pH 4, précipité par l'éthanol à 96°, puis déshydraté dans les conditions déjà décrites.

3° Comparaison des techniques (I) et (II). — Les conditions des opérations décrites ci-après étant identiques, nous avons comparé les résultats obtenus par les techniques (I) et (II) ; quelques-uns d'entre eux sont reportés dans le tableau 4 ; ils concernent soit une même souche, soit des souches très voisines. Ils montrent l'identité des valeurs obtenues par ces deux méthodes, aux erreurs d'expérience près, qu'il s'agisse de souches purifiées selon la technique (I) par un nombre élevé de « Sevag » (cas de *Fusiformis fusiformis*, *Fusocillus girans*, *Sphærophorus funduliformis* # 2 439) ou qu'il s'agisse de souches purifiées par un petit nombre de « Sevag » (*Fusiformis polymorphus*). Cette vérification était nécessaire puisque l'on sait depuis les travaux de Crampton et al. (1954) (47) que, en raison de l'hétérogénéité des molécules d'ADN, le mode de déprotéinisation et la nature de l'agent dénaturant peuvent intervenir sur la teneur en bases de l'ADN. Il était donc nécessaire de se demander si, pour les

(*) Versène = sel disodique de l'acide éthylène diamine tétracétique.

(**) Phénol pur Merck.

(***) L'ARN pourrait également être détruit à l'aide de ribonucléase, selon la technique de Marmur (1961) (108), et l'on obtiendrait ainsi un ADN polymérisé.

TABLEAU 4. — *Comparaison des techniques d'extraction et de purification* (I) *et* (II).

Souche	Technique	G	A	C	T	$\frac{G+A}{C+T}$	$\frac{A}{T}$	$\frac{G}{C}$	$\frac{A+T}{G+C}$	Écart
Fusiformis sp. B 58	(I) 7 « Sevag »	27,45	22,55	27,45	22,55	1,00	1,00	1,00	0,82	± 0,01
	(II) 3 « Phénol »	27,05	23,00	27,05	22,90	1,00	1,00	1,00	0,83	± 0,02
Sphærophorus funduliformis 2439	(I) 20 « Sevag »	16,60	33,35	16,75	33,30	0,99	1,00	0,99	1,99	± 0,01
	(II) 2 « Phénol »	16,7	33,3	16,7	33,3	1,00	1,00	1,00	1,99	
Fusocillus girans 128 III	(I) 22 « Sevag »	23,2	27,1	22,3	27,4	1,01	0,98	1,04	1,19	
Id. 627	(II) 3 « Phénol »	22,90	27,25	23,05	26,80	1,00	1,01	0,99	1,17	± 0,02
Sphærophorus gulosus 1072	(I) 19 « Sevag »	21,8	28,35	21,6	28,25	1,00	1,00	1,00	1,30	± 0,06
Id. 305	(II) 3 « Phénol »	20,5	28,95	21,00	29,55	0,97	0,97	0,97	1,40	± 0,01
Fusiformis fusiformis 514	(I) 25 « Sevag »	15,70	34,25	15,70	34,35	0,99	0,99	1,00	2,18	± 0,01
Id. 2207	(II) 3 « Phénol »	15,6	33,5	16,5	34,4	0,96	0,97	0,94	2,11	
Fusiformis polymorphus 226 I	(I) 5 « Sevag »	23,2	26,8	23,2	26,8	1,00	1,00	1,00	1,15	
	(II) 3 « Phénol »	23,3	26,75	23,7	26,25	1,00	1,01	0,98	1,12	± 0,01

souches exigeant un nombre élevé de « Sevag » un fractionnement partiel par élimination de certaines molécules d'ADN n'était pas effectué involontairement. La méthode (II) donnant des résultats tout à fait identiques à la méthode (I), cette hypothèse peut être éliminée (voir également les tableaux 8 à 20).

La technique (II) donne un rendement quantitatif en ADN bien supérieur ; elle seule nous a permis l'étude de souches sérophiles obligées dont le rendement en corps microbiens est souvent médiocre.

La technique (II) avec congélation à — 60° a permis l'extraction de l'ADN des souches 1956 A et 2688 (*Leptotrichia* sp., souches Second) résistantes à tout autre mode d'extraction.

Enfin la technique (II) présente le grand avantage d'être plus rapide.

b) Estimation quantitative des bases puriques et pyrimidiques de l'ADN

1° Une hydrolyse quantitative de ces bases doit d'abord être réalisée ; les bases pyrimidiques étant hydrolysées et détruites plus facilement que les bases puriques, la libération totale des quatre bases ne peut être obtenue que dans certaines conditions (*).

Dans ce travail, les hydrolyses ont été réalisées à l'aide d'acide formique (Wyatt, 1951 (199) et 1955 (201)) et surtout d'acide perchlorique (Marshak et Vogel, 1951 (110)). On peut utiliser, selon les techniques décrites par ces auteurs, de l'acide formique pur (98-100 %) à 175° pendant 30 à 120 minutes ou de l'acide perchlorique 12 N (70 %) à 100° pendant 1 heure (**). Wyatt (201) signale l'utilisation possible d'acide perchlorique 7,5 N ; tout au plus y a-t-il perte d'une petite quantité de thymine, ce que l'on évite en n'utilisant pas plus de 15 mm³ de ClO_4H par milligramme d'ADN. Nous avons utilisé ici de l'acide perchlorique pur Prolabo (65 %). Les hydrolyses sont réalisées sous vide, et l'hydrolysat repris dans 0,2 à 0,5 ml d'eau bidistillée ; après centrifugation pour éliminer les charbons, l'hydrolysat peut être déposé directement sur le chromatogramme ce qui est aisé si l'on n'a pas utilisé pour l'hydrolyse plus de 15 mm³ de ClO_4H par milligramme d'ADN.

(*) Pour une revue générale de cette question voir Bendich (1955) (16), I, p. 117 et Wyatt (1955) (201) ; voir également les méthodes plus récentes décrites par Narurkar et coll. (1957) (115) (P_2O_5 à 150° pendant 2 heures) et Dutta et coll. (1956) (57) (acide trifluoroacétique à 155° pendant 60 minutes).

(**) Lorsqu'aucune précision n'est donnée dans les tableaux 8 à 20, l'hydrolyse a été réalisée à l'aide d'acide perchlorique.

2° La séparation des bases est réalisée par chromatographie sur papier selon la technique de Wyatt (1955) (201) (papier Whatman n° 1 ; chromatographie ascendante pendant 48 heures, à température constante de 22° C ; solvant de Wyatt, 1951 (*) (199)) (alcool isopropylique : ClH pur concentré 11 N : eau bidistillée = 68 : 18 : 14 v/v). Lorsque le front du solvant a parcouru 40 à 45 cm, les chromatogrammes sont mis à sécher sous hotte fermée pendant une nuit. Il est en effet essentiel d'éliminer l'HCl avant d'exposer les chromatogrammes aux rayons UV pour éviter l'oxydation des bases et surtout de la cytosine.

Les spots sont révélés à l'aide de rayons UV aussi monochromatiques que possible (on utilise une lampe à vapeur de Hg à basse pression (**)). Le contour de chaque spot est dessiné au crayon, puis chacun d'eux inscrit dans un carré. Sur un même chromatogramme on a réalisé par exemple 3 taches à partir d'un même hydrolysat ; au niveau de chacune des 4 bases, on découpe deux carrés-témoins de mêmes dimensions que celles des 3 spots situés au même niveau : le papier chromatographique contient en effet des impuretés déplacées plus ou moins loin par le solvant et les extraits acides de papier absorbent les rayons UV de façon irrégulière selon le niveau considéré. Il est donc nécessaire de toujours retrancher des valeurs d'absorption de chaque base à leurs λ maxima et minima, l'absorption correspondante obtenue aux mêmes longueurs d'onde avec les carrés-témoins.

Les carrés découpés sont élués dans 5 ml de ClH 0,1 N pendant 2 heures à 37° ; les densités optiques de ces éluats sont mesurées au spectrophotomètre à la λ max (***) (longueur d'onde d'absorption maxima) et à la λr (longueur d'onde de référence = 290 mμ). Pour chaque base on calcule la différence entre la valeur de la densité optique à la λ max et à la λr ; on déduit du chiffre obtenu la moyenne des valeurs obtenues à ces mêmes longueurs d'onde pour les 2 témoins « blancs » correspondants : on obtient la densité optique corrigée de la substance. En divisant cette valeur par un coefficient propre à chaque substance (adénine : 2,42, guanine : 1,44, cytosine : 1,21, thymine : 1,37) (96), on obtient le nombre de molécules contenues dans une tache donnée et on calcule pour chaque tache initiale le pourcentage en bases. Les rapports A/T, G/C, (A + G)/(C + T), (A + T)/(G + C) sont ensuite établis à partir de la moyenne des valeurs obtenues pour les 3 taches d'un même chromatogramme. Pour de nombreuses souches

(*) Dans ce système solvant les Rf des principales bases sont : G = 0,22 ; A = 0,32 ; C = 0,44 ; T = 0,76 ; U = 0,66.

(**) Lampe Mineralight (modèle SL 2537-Ultraviolet Products, Inc. San Gabriel, South Passadena, Californie) : sensibilité supérieure à 10 μg pour chaque base.

(***) λ max : adénine 262,5 mμ, guanine 249 mμ, cytosine 275 mμ, thymine 264,5 mμ.

étudiées ici on a réalisé deux chromatogrammes : la moyenne de l'ensemble des valeurs est alors indiquée dans les tableaux 8 à 20 et l'écart obtenu entre ces deux mesures précisé pour le coefficient (A + T)/(G + C). On peut ainsi détecter et doser les bases provenant de l'hydrolyse de 0,5 mg à 1 mg d'ADN avec une précision suffisante.

B. — RÉSULTATS

1° Les souches Gram-négatives des termites et des blattes.

α) Résultats généraux

Des prélèvements du contenu de l'intestin postérieur ont été effectués chez 156 termites ; la provenance des souches anaérobies isolées est précisée dans le tableau 5. L'examen de ce tableau et de l'ensemble des résultats permet les commentaires suivants :

1° Parmi les *termites africains* aucune souche anaérobie n'a été isolée à partir de termites morts : la mort des termites s'accompagne d'une disparition de leur flore anaérobie ou, du moins, d'un envahissement de leur tube digestif par des bactéries aérobies facultatives (Streptocoques, *Bacillus*, Entérobactéries). Même en additionnant les milieux d'inhibiteurs des bactéries aérobies — azothydrate de sodium seul ou associé au vert brillant au 1/140 000 (Beerens, 1958 (10)), cristal violet au 1/100 000 (Beerens, 1952 (7)), sulfate de streptomycine et cristal violet, utilisés, chacun à la concentration de 1/100 000 (Omata et Disraely, 1956 (118)) — nous ne sommes pas parvenus à en isoler des bactéries anaérobies strictes. Parfois ces substances inhibent bien la flore aérobie, mais alors les cultures restent négatives (absence de flore anaérobie stricte ou inhibition concomitante de celle-ci ?). On ne peut, à cette occasion, que rappeler combien est difficile et illusoire l'utilisation d'inhibiteurs « sélectifs » des bactéries aérobies en vue de l'isolement des anaérobies, car il s'agit pour la plupart de substances inhibitrices des enzymes respiratoires des bactéries aérobies, et les concentrations qui inhibent les aérobies sont souvent bactéricides pour les anaérobies ; d'autre part, une concentration inhibitrice pour les aérobies Gram-négatifs ne l'est pas du tout pour les streptocoques facultatifs (cas de N_3Na).

2° 83 % des souches isolées proviennent de termites français *(Reticulitermes lucifugus* var. *saintonnensis (Rhinotermitidæ))* alors que ceux-ci ne représentent que 56 % du total des termites examinés. Tous les termites français étudiés étaient vivants et il est difficile de comparer ce matériel à celui de provenance africaine.

TABLEAU 5. — *Provenance des 43 souches anaérobies isolées à partir de l'intestin postérieur de 156 termites.*

Provenance	État	Prélèvements			Isolements positifs		Nombre de souches isolées à partir de	
		Nombre total	Soldats	Ouvriers	Soldats	Ouvriers	Soldats	Ouvriers
France (1)	vivants	88	28	60	8	23	9 { 2 Gram + / 7 Gram —	28 { 4 Gram + / 24 Gram —
Afrique (2)	morts	37	10	27	0	0	—	—
	vivants	31	7	24	0	5	—	6 { 5 Gram + / 1 Gram —

(1) Paris et La Rochelle.
(2) Congo (Brazzaville et Ruwenzori), Cameroun.

3° Les chiffres suivants sont plus significatifs : si l'on ne considère que les 119 termites vivants, français ou africains examinés, 73 % de ceux-ci proviennent de France : ils ont permis l'isolement de 86 % des souches et de 96 % de l'ensemble de la flore Gram-négative anaérobie.

Les termites africains n'ont pas été identifiés, mais l'absence totale de flore flagellée indique qu'il s'agit de *Termitidæ* (à flore bactérienne cellulolytique). Tenant compte des chiffres précédents, il est possible de conclure à la prédominance de la flore anaérobie, et surtout de la flore anaérobie Gram-négative, chez les *Rhinotermitidæ*, ce qui les oppose aux *Termitidæ*.

Les bactéries anaérobies Gram-positives, de fréquence relative élevée chez les *Termitidæ*, sont par contre rares chez les termites français. Elles ont été étudiées dans une communication antérieure (159).

Toutes les souches ici étudiées sont des chimioorgano-hétérotrophes. L'existence d'une flore anaérobie hétérotrophe, Gram-négative et asporulée, est donc caractéristique de la famille des *Rhinotermitidæ*.

4° Parmi les termites français, des souches Gram-négatives ont été isolées dans la caste des ouvriers un peu plus souvent que dans celle des soldats.

5° Parmi les 43 souches isolées : 6 l'ont été en culture pure d'emblée (Te. 61, Te. 95, Te. 98, Te. 111, Te. 118, Te. 121 (*)) ; dans 7 cas existait une association de deux bactéries anaérobies, l'une étant généralement Gram-positive, l'autre Gram-négative ; dans 29 cas, chaque prélèvement ne contenait qu'une seule espèce anaérobie.

En ce qui concerne les bactéries aérobies facultatives isolées chez *Reticulitermes lucifugus*, il s'agit essentiellement de bactéries Gram-négatives *(Enterobacteriaceæ)*, parfois de cocci (streptocoques anaérobies stricts évoluant vers l'aérobiose dès le 2e repiquage), très exceptionnellement de *Bacillus* ou d'Actinomycètes. Ces germes aérobies n'ont pas été déterminés. La prédominance de la flore Gram-négative aérobie ou anaérobie correspond bien à l'examen direct des frottis, qui contiennent de façon à peu près exclusive des bactéries Gram-négatives ; les *Bacillus* et plus encore les cocci y sont très rares.

6° Nous avons recherché, dans l'intestin postérieur de dix termites *(R. lucifugus)*, l'existence d'une flore cellulolytique anaérobie stricte ou facultative : le résultat a toujours été négatif. Au contraire, deux ensemencements de fragments de bois et de terre de termitière de *Reticulitermes lucifugus* ont donné lieu, dans les mêmes conditions, à la culture d'une flore bactérienne, cellulolytique en association. L'isolement des

(*) 30 % des termites vivants utilisés ont permis l'isolement de souches anaérobies ; celui-ci a été facile à effectuer : les bactéries aérobies, lorsqu'elles étaient présentes, n'étaient jamais prédominantes dans les primocultures, ce qui permet de penser qu'elles sont aussi minoritaires dans la panse rectale des termites (ceci n'est vrai que pour *R. lucifugus*).

espèces cellulolytiques n'a pas été poursuivi, mais dans les primocultures, prédominaient des bactéries sporulées (spores plectridiennes). Ceci montre que des bactéries cellulolytiques sont bien présentes dans le milieu extérieur environnant, mais non dans le contenu digestif des *Rhinotermitidæ*, et ceci confirme les résultats obtenus par divers auteurs.

L'intestin postérieur de *R. lucifugus* qui contient une abondante flore anaérobie hétérotrophe essentiellement Gram-négative, n'héberge pas de flore bactérienne cellulolytique. Ceci confirme la théorie selon laquelle une flore cellulolytique n'existe que chez les *Termitidæ*, alors que chez les termites inférieurs la digestion de la cellulose est effectuée par leur flore flagellée (65).

7° L'existence d'une flore cellulolytique n'a pas été recherchée ici chez les termites africains ; Pochon, De Barjac et Roche (1959) (128) l'ont étudiée chez *Sphærotermes sphærothorax (Termitidæ)*.

8° Par ensemencement du contenu intestinal de 5 termites *(R. lucifugus)* sur milieu de Benton à la chitine précipitée, en aérobiose et en anaérobiose, nous n'avons pas pu isoler de bactéries chitinolytiques.

9° En ce qui concerne les termites français, ils appartiennent tous au même groupe zoologique, *R. lucifugus* var. *saintonnensis*. Ils proviennent de Paris ou de la Rochelle ; les prélèvements ont été effectués, soit à leur arrivée, soit à partir d'une colonie provenant de La Rochelle et entretenue au laboratoire pendant plus d'un an : aucune différence notable n'a été observée entre la flore des uns et des autres.

La flore Gram-négative que nous allons décrire ci-après, mise à part *Pasteurella serophila* (# 134), a donc été isolée exclusivement chez *R. lucifugus*. Elle peut être divisée en 3 groupes :

— Groupe I : il comprend les espèces sérophiles obligées, isolées une seule fois (deux fois, dans un cas).

— Groupe II : il est formé de 24 souches à peu près identiques qui correspondent à une même espèce que nous considèrerons comme la plus caractéristique de la flore intestinale de *R. lucifugus*.

— Groupe III : il contient une seule souche isolée d'un termite (# Te. 53) ; mais nous y avons rattaché quelques souches provenant de blattes *(Blatta orientalis)* (contenu intestinal et, vraisemblablement, tubes de Malpighi), deux souches isolées du cæcum d'une souris *(Mus. musculus)* et quelques souches de collection. Ces souches étant très voisines doivent être étudiées ensemble.

Quelques remarques seront faites en fin de ce sous-chapitre, relatives à la signification et au rôle de cette flore non cellulolytique chez les *Isoptères*. La position systématique des bactéries des groupes II et III et les conséquences qui peuvent être tirées du seul fait de leur existence, quant à la validité du genre *Fusiformis* Hoelling, seront envisagées ultérieurement.

β) Description des souches

Groupe I. — Il comprend 7 souches correspondant à diverses espèces des genres *Pasteurella*, *Ristella* ou *Sphærophorus*. Elles proviennent de termites français (6 fois) ou africains (1 fois) ; trois d'entre elles ont été isolées sur milieu de Pillot et Faure et adaptées secondairement au milieu VF. Les autres ont été isolées directement sur milieu VF additionné de sérum. Elles ont besoin de sérum pour leur croissance. En raison de leurs besoins nutritionnels et de leur fragilité, il est en général impossible de les lyophiliser et d'obtenir un rendement en corps microbiens permettant la détermination de leur rapport (A + T)/(G + C). Elles n'ont pas pu être entretenues au laboratoire très longtemps par subcultures.

Souche Te. 134.

Origine : panse rectale d'un termite (ouvrier) du Congo (Brazzaville).

Milieu d'isolement : milieu de Pillot et Faure additionné de sérum frais ; adaptation au milieu VF dès le 2e repiquage.

Morphologie : bâtonnets Gram-négatifs de très petite taille (1 à 2 μ × 0,2 μ), isolés ou groupés en paires et en petits amas ; immobiles ; absence de spore et de capsule.

Physiologie : anaérobie très strict ; non réducteur. La survie des cultures en milieu VF à 22° est inférieure à 8 jours.

Cultures : sérophiles obligées ; gazogènes ; inodores.

Eau peptonée : absence de culture.

Bouillon glucosé + sérum : trouble léger puis dépôt granuleux.

Gélose profonde + sérum : colonies punctiformes ; gaz en petite quantité.

Gélatine : culture abondante avec gaz ; absence de liquéfaction. Absence d'action vis-à-vis de : lait, protéines coagulées, nitrates, glucides.

Caractères biochimiques : produit NH_3, aldéhydes, alcools, corps cétoniques, acides acétique, propionique, butyrique, lactique.

Identification : l'absence de formes filtrantes sur bougie permet d'éliminer le genre *Dialister*, d'abord évoqué en raison de la très petite taille des éléments. Cette souche peut être incluse dans le genre *Pasteurella* Trevisan. Parmi les 5 espèces anaérobies de ce genre (141), elle peut être identifiée : *P. serophila*.

Souche Te. 138.

Origine : intestin postérieur de *R. lucifugus* (Paris) ; ouvrier.

Milieu d'isolement : milieu de Pillot et Faure additionné de sérum ; adapté secondairement au milieu VF.

Morphologie : bâtonnets de 4-10 μ sur 0,3-0,5 μ, souvent groupés en chaînettes ; formes filamenteuses ; absence de sphéroïdes, immobiles ; Gram-négatifs.

Physiologie : anaérobie strict, non thermorésistant (résiste 5 min à 56°), réduction du vert janus.

Cultures : sérophiles obligées, inodores, non gazogènes.

Bouillon VF glucosé + sérum : trouble homogène ; pas d'indole.

Eau peptonée + sérum : trouble léger ; pas d'indole.

Gélose profonde au sérum : colonies blanches punctiformes.

Gélatine : non liquéfiée, formation d'un pigment noir.

Lait et protéines coagulées : non modifiés ; *glucides* non fermentés.

Caractères biochimiques : absence de formation d'indole, d'H_2S et d'acétoïne ; produit amines volatiles, aldéhydes, alcools, cétones, phénol, acides acétique et lactique.

Identification : bactérie anaérobie Gram-négative de taille moyenne et filamenteuse, ne donnant pas de sphéroïdes : elle peut être incluse dans le groupe II du g. *Ristella* Prévot (130) et identifié : *Ristella capillosa.*

Souche Te. 139 B.

Origine : intestin postérieur de *R. lucifugus* (Paris) ; ouvrier.

Milieu d'isolement : milieu de Pillot et Faure additionné de sérum ; adaptation dès le deuxième passage au milieu VF.

Morphologie : bâtonnet fin présentant des formes courtes et filamenteuses (20-30 μ × 0,4 μ), souvent ondulées, d'aspect pseudospirochétien ; formes courtes disposées en chaînettes ; mobile par reptation ou mouvement d'ondulation et rotation ; cils parapolaires ; Gram-négatif.

Physiologie : anaérobie très strict ; non réducteur ; non thermorésistant ; à 22° la survie des cultures est faible, inférieure à une semaine.

Cultures : sérophiles obligées, inodores, non gazogènes.

Bouillon VF glucosé : culture en « mie de pain ».

Eau peptonée : trouble léger suivi de la formation d'un dépôt granuleux ; absence d'indole.

Gélose profonde : colonies lenticulaires légèrement ocres.

Gélose inclinée sous vide + sérum : colonies rondes transparentes avec un centre opaque ocre.

Absence d'action sur lait, gélatine, protéines coagulées, nitrates, sulfites, glucides.

Biochimie : produit H_2S, amines volatiles, aldéhydes, corps cétoniques, acides acétique et lactique.

Identification : il s'agit d'un anaérobie Gram-négatif, mobile, cilié, cultivable sur les milieux usuels ; ces deux derniers caractères permettent

de l'éliminer du groupe des spirochètes, auquel on pouvait penser en raison de son type de mobilité, et de l'inclure dans les *Eubacteriales*, dans le genre *Zuberella*. Ses différents caractères permettent de l'identifier : *Z. rhinitis*.

Souche Te. 105 B.

Origine : Intestin postérieur de *R. lucifugus* (La Rochelle) ; ouvrier.

Isolement : milieu VF glucosé additionné de sérum.

Morphologie : bâtonnet fin à extrémités arrondies, droit, parfois légèrement incurvé, formes filamenteuses en bouillon et sphéroïdes de petite taille formés tardivement ; immobile, Gram-négatif.

Physiologie : anaérobie très strict, non thermorésistant (détruit par 10 minutes à 56°) ; réduit définitivement le rouge neutre, temporairement la safranine.

Cultures : sérophiles obligées, non gazogènes, inodores.

Bouillon glucosé + sérum : trouble homogène ; culture lente en 2 à 4 jours.

Gélose profonde + sérum : colonies lenticulaires de petite taille.

Eau peptonée + sérum : trouble ; pas d'indole.

Absence d'action sur : gélatine, lait, protéines coagulées, nitrates, sulfites ; non hémolytique.

Glucides : fermentation acide, sans production de gaz, des sucres suivants : glucose, lactose, lévulose, saccharose, maltose, galactose, amidon.

Biochimie : produit aldéhydes, acides acétique, propionique et lactique.

Conservation : par lyophylisation.

Détermination : le polymorphisme et la présence de sphéroïdes, la sérophilie obligée et le pouvoir glucidolytique de cette souche nous avaient d'abord fait envisager de la rattacher à *Sphærophorus glycolyticus ;* mais elle en diffère par son type fermentaire et son coefficient (A + T)/(G + C). Ses caractères sont d'ailleurs identiques à ceux d'une souche de collection (# 1206 A) identifiée *Ristella uniformis ;* nous la rattachons provisoirement à *R. uniformis*.

Souche Te. 140.

Origine : panse rectale de *R. lucifugus* (Paris) ; ouvrier.

Isolement : milieu VF additionné de sérum.

Cette souche est voisine de la précédente ; signalons qu'elle donne en gélose profonde des colonies punctiformes, produit de l'indole en eau peptonée et coagule le lait en 4 jours. Tous les autres caractères sont identiques à ceux de Te. 105 B, en particulier, mêmes fermentations des glucides et même type fermentaire. Sa conservation par lyophylisation n'a pas été possible. Nous la rattachons à *Ristella uniformis*.

Souche Te. 104 A.

Origine : panse rectale de *R. lucifugus* (La Rochelle) ; ouvrier.

Isolement : sur milieu VF + sérum ; association avec *Streptococcus micros* (# 104 B).

Morphologie : bâtonnet fin à extrémités arrondies, parfois effilées, formes renflées et sphéroïdes libres de petite taille (2 μ), apparaissant en gélose profonde du 3e au 5e jour ; formes filamenteuses et rares ramifications dans les cultures de 8 à 10 jours ; immobile ; Gram-négatif.

Physiologie : anaérobie très strict ; non thermorésistant ; réduit le rouge neutre.

Cultures : sérophiles obligées, non gazogènes ; inodores.

Bouillon glucosé + sérum : trouble homogène ; formation d'H_2S ; pas d'indole.

Gélose VF + sérum : colonies punctiformes ou lenticulaires.

Absence de modification de : lait, gélatine, protéines coagulées, nitrates, sulfites.

Glucides : fermentation faible (pH 6) de glucose, galactose, maltose, lévulose, lactose, amidon, glycérine.

Le type fermentaire n'a pas été établi (croissance trop faible).

Identification : en raison de son polymorphisme, de sa sérophilie obligée et de l'absence de pouvoir gazogène, cette souche peut être rattachée au groupe B du genre *Sphærophorus* (Prévot, 1957 (141)) et à l'espèce : *Sph. abscedens.*

Souche Te. 113 C.

Origine : panse rectale de *R. lucifugus* (La Rochelle) ; ouvrier.

Isolement : milieu VF glucosé + sérum, en association avec *Streptococcus micros* (# 113 A).

Morphologie : bâtonnet de 2-6 μ × 0,5 μ à coloration bipolaire ; sphéroïdes de petite taille (2-3 μ) apparaissant dans les géloses après un séjour prolongé à 37° ; immobile ; Gram-négatif.

Physiologie : anaérobie très strict, non thermorésistant ; survie de 2 mois à 20° ; réducteur (réduction définitive de la safranine).

Cultures : sérophiles obligées, non gazogènes, non fétides. Elles sont toujours lentes, favorisées par l'addition de sérum, extrait globulaire, extrait de cervelle. Elles sont fragiles et n'ont pas pu être lyophilisées.

Bouillon VF glucosé + sérum : dépôt granuleux ; absence de formation d'indole.

Eeau peptonée : absence de culture.

Gélose profonde + sérum : colonies lenticulaires, devenant noires au bout de quelques jours.

Lait : non modifié ; *protéines coagulées :* non attaquées, *glucides :* non fermentés ; *nitrates* réduits en nitrites.

Biochimie : produit H_2S, amines volatiles, aldéhydes, alcools, corps cétoniques, acides formique, acétique et lactique. Absence d'acide succinique.

Le *pigment*, surtout formé sur gélatine nutritive, est partiellement soluble dans NaOH N/10, ClH N à 100° et ClH pur à froid ; il est totalement soluble dans ClH et SO_4H_2 purs concentrés à 100° ; il est insoluble dans eau, alcool, chloroforme, éther, acétone. Ce pigment appartient donc au groupe des *mélanines*.

Position systématique : le polymorphisme et la présence de sphéroïdes permettent de rattacher cette souche au g. *Sphærophorus* Prévot ; parmi les espèces sérophiles obligées, non gazogènes, l'espèce dont elle se rapproche le plus est *Sph. abscedens*. Elle en diffère toutefois par 3 caractères : absence de production d'indole, réduction des nitrates en nitrites, présence d'un pigment du groupe des mélanines sur gélatine et gélose VF. Elle ne peut pas, d'ailleurs, être rattachée à *Ristella melaninogenica*, hémophile obligée, dont le pigment noir n'est pas une mélanine mais un dérivé de l'hémoglobine (Schwabacher et coll., 1947 (158)).

La dénomination *Sph. abscedens* var. *niger* var. nov. est proposée pour cette souche.

Groupe II. — Nous avons isolé de l'intestin postérieur de *R. lucifugus* 24 souches anaérobies strictes, Gram-négatives, asporulées, immobiles. En raison de l'identité de la plupart de leurs caractères, nous donnerons une description détaillée de l'une d'entre elles (107 A), puis nous signalerons pour les autres souches les variations possibles. Nous montrerons qu'il ne s'agit que de différences mineures et qu'elles appartiennent à une même espèce.

Souche Te. 107 A.

Origine : intestin postérieur de *R. lucifugus* (soldat) (La Rochelle) ; association avec *Micromonospora acetoformici* (≠ 107 B) (159).

Isolement : réalisé sur milieu VF glucosé ; primoculture en 24 heures.

Morphologie : bâtonnet fin, d'un polymorphisme extrême :

— existence de *formes courtes* 5 à 8 μ sur 0,3 μ, à extrémités arrondies ; l'une des deux extrémités est parfois effilée ; bactérie droite ou légèrement incurvée (fig. 1 *f*) : les formes courtes prédominent en gélose profonde.

— présence de *formes filamenteuses* très longues, parfois ondulées (fig. 1 *a*, *b*, *i*). Tous ces éléments sont isolés, ou groupés en paquets (fig. 1 *e*, *g*) ; les formes filamenteuses prédominent en bouillon VF et eau peptonée ;

— existence de ramifications (fig. 1 *e*, *h*) ; elles sont surtout situées au niveau des sphéroïdes comme dans la figure 1 *e* ;
— on observe dans des cultures de 18 heures, des renflements de 3 à 5 μ de diamètre ou sphéroïdes. Ils sont sphériques ou fusiformes, rarement libres, le plus souvent situés sur le trajet d'une forme moyenne ou filamenteuse (fig. 1 *d*) ou à l'intersection de trois filaments (fig. 1 *e*). Ce même aspect en Y peut s'observer, en l'absence de sphéroïdes, à la jonction de 3 bâtonnets ;
— immobile, absence de cil, de capsule et de spore ;
— coloration Gram-négative, mais présence de zones chromaffines, plus intensément colorées par tous les colorants usuels (fig. 1 *d*), situées sur les filaments ou dans les sphéroïdes. Par hydrolyse chlorhydrique suivie de recoloration au Giemsa, on peut mettre en évidence le matériel nucléaire (fig. 1 *c*, *h*, *i*).

Ces sphéroïdes apparaissent en l'*absence de sérum*, dans des cultures en phase logarithmique de croissance : c'est à ce stade qu'ils sont le plus volumineux et le plus typiques, ils sont plus petits et plus rares dans des cultures de plusieurs jours. C'est pourquoi on a pu être tenté d'attribuer à des formations de ce type un rôle dans le cycle de reproduction de la bactérie. Le problème de leur signification sera envisagé ultérieurement.

Physiologie : anaérobie très strict.

— *Thermorésistance nulle :* résiste à un chauffage de 5 minutes à 60°, mais est détruit par un chauffage de 10 minutes à 60° ou 1 minute à 70°.
— *Température de culture :* il s'agit d'une espèce mésophile : les cultures sont faibles et lentes (3 jours) à 28° ; absence de croissance à 56°. La température optima est de 37°.
- Les cultures en milieu VF survivent 6 à 8 mois à la température du laboratoire ; conservation par lyophilisation.
Pouvoir réducteur : réduit définitivement vert janus et rouge neutre ; réduit temporairement la safranine.
— Les cultures ne sont pas inhibées par le violet de gentiane au 1/100 000 et le milieu vert brillant — N_3Na de Beerens.

Cultures : non sérophiles, inodores, très gazogènes.

— *Gélose profonde :* colonies lenticulaires, incolores ; formation d'un gaz abondant disloquant la gélose.
— *Gélose inclinée sous vide :* les colonies sont rondes, transparentes, de 1 mm de diamètre ; après plusieurs jours elles atteignent 2 mm de diamètre et s'opacifient légèrement.
— *Eau peptonée :* culture pauvre, absence de formation d'indole.
— *Bouillon VF glucosé :* formation d'ondes moirées dans les cultures

de 10 à 12 heures, donnant un trouble uniforme par agitation légère. A partir de la 24e heure, formation d'un dépôt au fond du tube, le surnageant reste légèrement trouble ; absence de formation d'indole ; présence d'H_2S ; gaz abondant inflammable à l'ouverture du tube (H_2).

— *Gélatine :* non liquéfiée.

— *Lait :* non coagulé.

— *Protéines coagulées :* non attaquées.

— *Glucides :* fermentation acide et gazeuse en 12 heures de : glucose, xylose, lévulose, saccharose, maltose, galactose. Les milieux contenant ces divers sucres sont acidifiés à pH 3. Amidon, glycérol, arabinose et lactose ne sont pas fermentés.

— *Nitrates :* non réduits en nitrites ; absence de pouvoir sulfito-réducteur ; absence d'uréase et de catalase.

— Absence de pouvoir cellulolytique et chitinolytique.

— *Produits finaux de fermentation :* en bouillon VF glucosé, formation de H_2, H_2S, NH_3, amines volatiles, aldéhydes, alcool éthylique, acides formique, acétique, lactique et succinique. Absence de formation d'acétoïne, corps cétoniques, phénol, indole et scatole.

— Absence d'hémolysine ; absence de toxine.

— *Pouvoir pathogène :* nul sur souris et cobaye.

La *position systématique* de cette souche sera envisagée ultérieurement. Mais notons que la morphologie précédemment décrite — présence de *volumineux sphéroïdes* et de ramifications chez une bactérie anaérobie Gram-négative, apparaissant en culture jeune, en l'absence de sérum et de tout antibiotique — oriente vers le diagnostic de *Sphærophoraceæ* (130) ; l'absence d'extrémités toujours effilées, la grande taille et l'abondance des sphéroïdes, sont en faveur du genre *Sphærophorus* Prévot, 1938. Par ses diverses propriétés, elle se rangerait, au sein de ce genre, dans le groupe gazogène, non sérophile, non hémolytique.

Mais on peut également envisager son rattachement aux genres *Fusiformis* ou *Leptotrichia* (extrémités parfois effilées, formes filamenteuses, zones chromaffines).

Nous avons isolé 23 souches anaérobies strictes très voisines de Te. 107 A. Leurs principaux caractères sont résumés dans le tableau 6. Les caractères communs seront rappelés uniquement dans le texte ; ils sont les plus nombreux et permettent l'inclusion de ces souches dans une même espèce.

Souches voisines de Te. 107 A.

1° Leur origine. — Elles ont été isolées à partir de termites *(R. lucifugus)* provenant, soit directement de Paris ou de La Rochelle, soit d'une colonie entretenue au laboratoire. Elles n'ont par contre *jamais* été isolées

TABLEAU 6. — *Variation des caractères des bactéries du groupe II isolées chez* Reticulitermes lucifugus.

Souches Te	Morphologie	Culture en milieu VF	H_2S	$\frac{A+T}{G+C}$	Acide succinique	Acide lactique	Acides volatils
46	Extrémités effilées, arrondies ; ramifications, sphéroïdes.	Trouble	+	2,03	+	+	FA
48	*Id.*	Trouble	+	1,89	+	+	FA
51	*Id.*	Grains	+	.	.	+	FA
55	*Id.*	Grains	o	2,07	o	+	.
57	Peu de formes filamenteuses, sphéroïdes.	Grains	o	2,03	+	+	.
61	Extrémités effilées et arrondies.	Grains	o	1,94	+	+	FA
74 B	*Id.*	Grains	+	.	.	+	FA
78 A	*Id.*	Grains	+	.	o	+	.
95	Polymorphisme ++ (formes ondulées).	Grains	+	2,27	+	+	.
96	Extrémités effilées et arrondies ; ramifications ; sphéroïdes.	Trouble	+	2,02	.	.	FA
98	Polymorphisme ++ formes ondulées ; ramifications.	Trouble	+	1,81	o	+	.
101	Ramifications, sphéroïdes.	Trouble	o	.	o	+	A
102	Formes filamenteuses ; ramifications, sphéroïdes.	Grains	+	.	o	+	FA
106	*Id.*	Grains	+	2,25	o	+	FA
107	Polymorphisme ++.	Trouble (léger)	+	2,00	+	+	FA
109	Nombreux sphéroïdes.	Grains	+	2,06	+	.	FA

Tableau 6 *(Suite)*

Souches Te	Morphologie	Culture en milieu VF	H_2S	$\frac{A+T}{G+C}$	Acide succinique	Acide lactique	Acides volatils
110	Extrémités arrondies et effilées ; ramifications et sphéroïdes.	Grains → trouble	+	2,21	o	o	FA
111	Extrémités arrondies et effilées ; peu de sphéroïdes.	Grains → trouble	+	2,29	+	o	FA
115	Formes filamenteuses.	Grains	+	1,96	+	+	FAB
116	Formes arrondies et effilées, sphéroïdes.	Grains	o	1,96	+	.	.
118	*Id.*	Grains	+	2,07	+	.	.
119	*Id.* Nombreuses formes filamenteuses.	Trouble	+	1,89	+	+	FA
121	Formes filamenteuses.	Grains	o	.	o	+	FA
126	Formes filamenteuses ; ramifications.	Grains	+	2,15	o	+	FA

chez les termites africains. Ces souches proviennent de l'intestin postérieur des ouvriers (17 fois) ou des soldats (7 fois). Si l'on considère que les prélèvements ont été effectués chez des soldats dans 1/3 des cas environ, leur fréquence est à peu près la même chez soldats et ouvriers.

La même souche a été retrouvée (≠ Te. 115) à la fois dans l'intestin postérieur et dans l'aliment proctodéal.

Dans l'isolement 106, une souche anaérobie de ce type a été isolée de la panse rectale (≠ Te. 106), mais elle n'a pas pu être cultivée à partir du contenu du jabot. Les bactéries de ce groupe semblent donc localisées assez étroitement à la panse rectale et, accessoirement, au tractus digestif sous-jacent, où elles sont présentes à titre transitoire, ce qui permet la réinfestation du tube digestif de termite à termite par l'intermédiaire de l'aliment proctodéal.

Ces 24 souches ont été isolées sur un total de 88 prélèvements : leur fréquence d'isolement est de 27 % : sur l'ensemble des 37 souches anaérobies strictes isolées chez *R. lucifugus*, 24 forment un groupe homogène corres-

pondant à 64,8 % de leur flore anaérobie. Ceci permet de les considérer comme le représentant le plus constant et le plus caractéristique de cette flore.

2° Milieux d'isolement.

— *Milieu VF glucosé à 2 0/00 :* enrichissement en milieu liquide et isolement sur géloses VF. Les primocultures ont lieu en 1 à 6 jours.

— *Milieu VF glucosé + extrait stérile de tube digestif de termite :* isolement de la souche Te. 48.

— *Milieu VF glucosé + vert brillant + N_3Na* (milieu de Beerens) : isolement de la souche Te. 126.

3° Étude de ces souches. — *Morphologie :* elle est toujours très voisine de celle de la souche-type. Les quelques variations observées sont résumées dans le tableau 6.

— *Physiologie :* identique à la souche-type ; aucune souche n'a évolué vers l'aérobiose ; pas d'acquisition de catalase. De façon constante les souches ne résistent pas à un chauffage de 10 minutes à 60°. Survie des cultures pendant plusieurs mois à la température du laboratoire ; conservation indéfinie par lyophilisation.

— *Caractères culturaux :* ils sont identiques à ceux de la souche-type ; signalons que, sur bouillon VF glucosé, leur mode de croissance est sujet à quelques variations (tableau 6) : les souches, pour la plupart, poussent sans troubler le bouillon et forment des grains se déposant au fond du tube et sur les parois : ces grains se dissocient très facilement par agitation (aspect en « mie de pain »). Pour les souches Te. 110 et Te. 111, nous avons observé, au cours des subcultures en milieu liquide, la variation « culture en grains » → « bouillon troublé » ; la variation inverse n'a pas été notée.

En gélose profonde les colonies sont lenticulaires ; avec certaines souches on observe une dissociation (colonies lenticulaires et punctiformes) : par repiquage de ces deux types on obtient indifféremment l'une ou l'autre forme.

— *Action sur les divers milieux :* même action négative vis-à-vis de gélatine, lait, protéines coagulées, sulfites, nitrites, absence de catalase et uréase. Aucune de ces souches ne produit d'indole ni d'acétoïne ; aucune ne fermente glycérol, amidon, arabinose et lactose ; elles ne sont pas cellulolytiques ni chitinolytiques.

— *Produits terminaux de fermentation :* toutes les souches testées produisent NH_3, amines volatiles, aldéhydes, alcools, cétones, acides formique, acétique et lactique (2 exceptions). Une seule souche produit, en plus, de l'acide butyrique. La production d'acide suc-

cinique est fréquente (12/21) mais inconstante. Six souches ne produisent pas d'H_2S (tableau 6).

La teneur en bases puriques et pyrimidiques de ces souches est très voisine, quoique soumise à de petites variations (tableau 19).

Caractères morphologiques, culturaux, production d'H_2S, d'acides fixes et volatils, teneur (A + T)/(G + C) sont donc sujets à de petites variations, qui ne permettent pas, toutefois, l'établissement de sous-groupes : l'ensemble de ces souches peut être inclus dans une même espèce ; pour les raisons déjà précisées, on peut envisager leur rattachement au g. *Sphærophorus* (Prévot) (groupe gazogène, non sérophile, non hémolytique) et, plus particulièrement, aux espèces *Sph. varius* et *Sph. siccus* en raison de leurs caractères culturaux et biochimiques (*).

Groupe III. — En raison de l'identité des caractères principaux des souches incluses dans ce groupe l'une d'elles sera décrite comme souche-type. Nous signalerons pour les autres leurs caractères particuliers.

Souche Te. 53.

— *Origine :* intestin postérieur de *R. lucifugus* (La Rochelle) ; soldat.

— *Milieu d'isolement :* milieu VF glucosé.

— *Morphologie :* en culture de 12 heures, il s'agit d'un bâtonnet polymorphe, à extrémités arrondies : formes courtes de 4 à 7 μ et formes filamenteuses de 15 à 30 μ présentant un ou plusieurs renflements sur leur trajet, d'où aspects en navette, en fuseau, en tonnelet, aspects moniliformes, etc. Présence de nombreux sphéroïdes libres de 2 à 10 μ de diamètre, apparaissant dans les cultures à partir de la 6e heure. Bâtonnets immobiles, aciliés, acapsulés. Coloration Gram-négative, mais présence de zones très chromaffines (à l'extrémité des bactéries ou sur le trajet des formes filamenteuses, au centre ou à la périphérie des sphéroïdes (fig. 2 *a*, *b*, *c*)). Certaines de ces zones chromaffines sont colorées par la technique de Robinow.

Très fréquemment à partir de cultures de 18 heures en milieu liquide, on observe l'aspect de la figure 2 *d*, interprété, par certains auteurs, comme une fusion de deux bâtonnets avec formation d'une cellule diploïde. Ce problème sera discuté ultérieurement.

— *Physiologie :* anaérobie strict ; absence de thermorésistance ; résiste 5 minutes à 60° ; détruit par un chauffage de 1 minute à 70° ; tous les

(*) Elles se rapprochent surtout de *Sph. siccus* qui forme en bouillon VF un dépôt pulvérulent, produit de l'H_2S et n'est pas indologène. Elles en diffèrent par leur pouvoir glucidolytique et leur type fermentaire.

colorants sont réduits en 24 heures. Les cultures résistent à un séjour de 8 mois en milieu VF à 20°.

— *Cultures :* non sérophiles, gazogènes, fétides.

— *Eau peptonée :* culture pauvre, indole irrégulièrement formé.

— *Bouillon VF :* trouble abondant, gaz, H_2S.

— *Gélose profonde VF :* colonies lenticulaires ; gaz abondant disloquant la gélose.

— *Gélatine :* non liquéfiée.

— *Lait :* acidifié, non coagulé.

— *Protéines :* non attaquées.

— *Nitrates :* non réduits.

— *Sulfites :* réduits en sulfures.

Absence d'uréase et de catalase, absence d'hémolysine.

— *Glucides :* fermentation acide de glycérol et amidon ; le lactose n'est pas fermenté. Les autres sucres sont fermentés faiblement.

Absence de pouvoir cellulolytique.

— *Caractères biochimiques :* produit NH_3, amines volatiles, aldéhydes, acides acétique, propionique, butyrique, lactique et succinique.

— *Position taxinomique :* il s'agit d'une bactérie Gram-négative très polymorphe ; elle peut être incluse parmi les *Actinomycétales* dans la famille des *Sphærophoraceæ* et dans le g. *Sphærophorus* (130). Elle appartient au groupe gazogène, non sérophile obligé, non hémolytique de ce genre ; elle forme en gélose profonde des colonies lenticulaires et ne modifie ni le lait ni la gélatine. On peut éliminer : *Sph. necroticus* (bactérioglées visqueuses), *Sph. siccus* (ne trouble pas le bouillon VF, non indologène). Cette souche se rapproche de *Sph. varius* mais en diffère cependant par quelques caractères : elle a un pouvoir glucidolytique faible ; elle ne produit pas d'acétoïne ; son type fermentaire, déterminé par chromatographie, est acétique-propionique-butyrique-lactique-succinique (au lieu de acétique-butyrique-lactique pour *Sph. varius* par la méthode de Duclaux) ; enfin elle est sulfito-réductrice, caractère tout à fait inhabituel chez les *Sphærophorus*.

Le problème se posait de savoir s'il s'agit d'une variété sulfito-réductrice de *Sph. varius* ou d'une espèce nouvelle. L'existence d'une sulfito-réductase a retenu notre attention ; contrairement à l'opinion ancienne selon laquelle cette enzyme n'existe que chez une seule bactérie anaérobie *(Welchia perfringens)*, Prévot a montré (141) (145) que de nombreuses espèces anaérobies (22 espèces) étaient capables d'avoir une activité sulfito-réductrice : elles appartiennent toutes aux genres *Welchia*, *Clostridium*, *Eubacterium*.

Pour savoir si ce caractère peut être mis en évidence dans la famille des *Sphærophoraceæ*, nous l'avons recherché chez 50 souches appartenant aux diverses espèces des genres *Fusiformis* et *Sphærophorus*. Dans deux cas

seulement nous avons obtenu une réaction positive ; il s'agit de *Sphærophorus necrophorus* (# 356 ; provenance : abcès de castration du cheval (souche non conservée)) et de *Fusiformis fusiformis* (# 700 ; provenance : foie de bovidé) ; l'examen de cette souche a révélé l'existence d'une morphologie à coloration bipolaire et extrémités non effilées et ses caractères biochimiques permettent de l'identifier : *Sphærophorus varius.*

Enfin une réaction positive a été obtenue avec les souches 2333 et 1669 B primitivement identifiées *Fusocillus girans* et réidentifiées dans ce travail (cf. § II C. 1°) *Sphærophorus varius* en raison de l'ensemble de leurs caractères. La souche 2333 provient d'une pseudoactinomycose humaine et la souche 1669 B d'une pseudoactinomycose du chat. L'origine animale de ces souches sulfito-réductrices semble la plus fréquente.

Souches CSA et CSB.

— *Origine :* cæcum d'une même souris.
— *Isolement :* milieu VF ordinaire.

Elles avaient été différenciées à l'isolement en raison de leurs caractères morphologiques :

 # CSA : bâtonnet court à coloration bipolaire, de 2 à 6 μ, sans aucun polymorphisme. Dans de très vieilles cultures on observe quelques rares formes filamenteuses ; Gram-négatif ; asporulé.

 # CSB : bâtonnet Gram-négatif asporulé, non thermorésistant, d'un grand polymorphisme en cultures de 4 à 12 heures tant en milieu VF liquide que gélosé : à partir de la 4e heure on voit apparaître (surtout en milieu gélosé) des corps globuleux (diamètre > 30 μ) à contours irréguliers, semblant libérer des formes coccoïdes à la limite de la visibilité. Existence de bâtonnets à coloration bipolaire avec ou sans sphéroïdes ; sphéroïdes libres de 10 à 25 μ de diamètre. Après quelques subcultures, les corps globuleux disparaissent ; cette souche reste polymorphe, donnant naissance à des sphéroïdes de grande taille.

Souches Bl_1, Bl_3, Bl_6, Bl_7In, Bl_{10}, Bl_{15}.

— *Origine :* la souche Bl_7In, provient du contenu intestinal de *Blatta orientalis* ; les autres souches ont été isolées au cours de tentatives de culture des bactéroïdes : il s'agit de contaminations, vraisemblablement par les tubes de Malpighi. Ces prélèvements n'ont pas été effectués chez des blattes provenant d'élevages aseptiques. De telles bactéries ne sont pas retrouvées chez des blattes aseptiques.

— *Isolement :* réalisé sur gélose VF glucosée ou sur gélose VF gluco-

sée + sulfite de sodium + alun de fer ; un enrichissement préalable en bouillon VF est souvent nécessaire.

— *Morphologie :* bactérie Gram-négative, très polymorphe.

a) *En bouillon VF :* formes filamenteuses de largeur variable (0,5 à 2 μ) présentant des zones chromaffines ; sphéroïdes de grande taille, supérieure à 15 μ (≠ Bl_1 et Bl_3, (fig. 3 *a*)), ou bâtonnets à coloration bipolaire et formes en navette de taille variable (0,2 × 0,6 μ et 2 × 10 μ), non associés à des sphéroïdes dans la primoculture (≠ Bl_6 (fig. 3 *e*)). Après un nombre variable de subcultures en milieu liquide, sans passage par milieu gélosé, on observe un retour à la forme bacillaire (10e subculture pour la souche Bl_1, 3e subculture pour la souche Bl_3).

b) *En gélose profonde VF :* les formes filamenteuses sont moins nombreuses. Il s'agit, parfois presque exclusivement, de sphéroïdes libres de 10 à 25 μ de diamètre et de renflements ovoïdes situés sur le trajet des bacilles (fig. 3 *c*, *d*). Une telle morphologie a persisté pour la souche Bl_1 pendant 25 passages en milieu gélosé ; mais ensuite les formes bacillaires prédominent. On note souvent l'existence de formes arquées, de bâtonnets groupés par deux et de bifurcations.

c) *Sur gélose VF inclinée* (culture sous vide) : bâtonnets simples souvent groupés par deux (fig. 3 *f*).

Les formes filamenteuses et sphériques possèdent de très nombreuses granulations nucléaires (fig. 4) ; leur paroi est déficiente : au cours des premières subcultures, ces bactéries sont lysées aisément par les détergents (voir aussi les photomicrographies électroniques (fig. 5) et la discussion p. 126 à 133).

— *Caractères physiologiques, culturaux et biochimiques :* ces souches sont asporulées, non thermorésistantes (elles ne résistent pas à un chauffage de 2 minutes à 60°). Elles sont très voisines entre elles, mais diffèrent de la souche Te. 53 par une activité glucidolytique moindre et un pouvoir uricolytique intense ; elles fermentent en 24 heures la totalité de l'acide urique d'un milieu type Keller (84) contenant 0,2 % d'acide urique. Elles sont sulfito-réductrices, peu ou pas indologènes ; leur type fermentaire est F A P B L S. L'ensemble de leurs caractères est résumé dans le tableau 7.

Ces souches sont résistantes à : sulfamides, novobiocine, érythromycine, streptomycine, spiramycine ; elles sont sensibles à pénicilline, chloramphénicol, terramycine, auréomycine, tétracycline.

Leur position systématique est celle de la souche Te. 53 (cf. § II *c*. 8°).

Commentaires zoologiques. — 96 % des bactéries Gram-négatives isolées ici chez des termites proviennent de *Reticulitermes lucifugus* var. *saintonnensis*, termite inférieur de la famille des *Rhinotermitidæ*. Les commentaires suivants ne concernent donc que ce groupe zoologique.

Nous ferons ensuite quelques remarques au sujet des bactéries isolées chez les blattes.

R. lucifugus possède essentiellement une flore Gram-négative et asporulée, alors que celle des *Termitidæ* contient davantage d'espèces Gram-positives. Une flore spécialisée cellulolytique ou chitinolytique en est absente, ce qui confirme la conception de Grassé et Noirot déjà rappelée, relative à la place occupée par les *Rhinotermitidæ* par rapport à l'ensemble des *Isoptères*, en particulier sous l'aspect de leurs symbioses.

L'ensemble des bactéries isolées apparaît comme une flore adaptée à la vie parasitaire ou symbiotique. Toutes les souches étudiées ici sont anaérobies strictes et chimioorganohétérotrophes ; toutes sont atriches (sauf une) ; toutes sont d'un polymorphisme extrême : ces caractères ont été interprétés, respectivement, par Lwoff (106), Leifson (98), Baird-Parker (1) comme les conséquences d'une adaptation à la vie parasitaire.

Les souches du groupe I sont sérophiles obligées, peu ou pas réductrices (la présence d'acide thioglycolique dans le milieu de Pillot et Faure explique sans doute pourquoi trois sur sept d'entre elles y ont été isolées) ; elles ne dégradent qu'un petit nombre de substrats ; elles ne résistent pas aux conditions difficiles. Les exigences des souches des groupes II et III sont moindres. Elles ne sont pas sérophiles obligées et sont très réductrices.

Les souches du groupe II, en raison de leur fréquence, peuvent être considérées comme les représentants les plus constants et les plus caractéristiques de cette flore. Lorsque l'on sait avec quelle facilité, dans une culture mixte, une bactérie aérobie prédomine volontiers, voire inhibe la croissance de l'anaérobie associée, la facilité avec laquelle elles ont été isolées ici, parfois en culture pure, permet de considérer qu'elles correspondent à un pourcentage élevé de la flore intestinale de ces termites.

Quel peut être le rôle d'une telle flore dans son milieu naturel ? Aucune expérimentation n'a été tentée pour résoudre ce problème; cependant quelques suggestions peuvent être faites. Dénuées de toute activité cellulolytique, ces bactéries sont fortement glucidolytiques. On peut supposer qu'elles métabolisent des sous-produits de digestion de la cellulose et les transforment en acides volatils assimilables par les termites ou les flagellés. La paroi de l'intestin postérieur des termites est perméable à l'acide acétique, et on ne retrouve pas cet acide dans les excréments des termites. L'acide acétique est l'un des produits de dégradation de la cellulose par les flagellés (Hungate, 1943 (74)). Mais les bactéries anaérobies ici isolées produisent des acides volatils (acétique et formique) et fixes (lactique et, de façon inconstante, succinique) qui pourraient être également absorbés par les termites. En raison de la production de quantités importantes d'H_2 par les bactéries du groupe II en bouillon VF glucosé, il est permis de penser que ces bactéries peuvent, *in vivo* et dans des cultures mixtes de

Souches	Polymorphisme	Odeur	VF	Glucose	Lévulose	Galactose	Maltose	Saccharose	Lactose	Glycérol
varius 1610	+	+	Non troublé	o	++	o	o	o	o	o
siccus 1802	+	±	Non troublé	++	++	o	o	o	o	o
Groupe II 24 souches	+	o	Troublé ±	+	+	+	+	+	o	o
varius 1669 B	±	+	Troublé	++	++	o	±	o	o	o
varius 2333	±	+	Troublé	++	++	o	o	o	o	o
Te 53	+	+	Troublé	±	±	±	±	±	o	+
700	±	+	Troublé	++	++	±	o	o	o	o
2587	±	+	Troublé	++	++	o	o	o	o	o
CS A	o	+	Troublé	++	++	+	o	±	±	±
CS B	+++	+	Troublé	++	++	±	o	±	±	±
Bl 1	+++	+	Troublé	++	++	±	o	±	o	±
Bl 3	++	+	Troublé	++	++	+	o	±	±	±
Bl 6	+++	+	Troublé	+	++	o	o	o	o	o
Bl 7 In	++	+	Troublé	++	++	o	o	o	o	+
Bl 10	++	+	Troublé	++	++	o	o	o	±	o
Bl 15	+++	+	Troublé	±	++	o	o	o	o	o

Amidon	SH_2	Sulfites	Ac. lactique	Ac. succinique	Ac. volatils	(A + T)/(G + C)	Indole	Fermentation de l'acide urique	Classification proposée
o	+	o	+	+	A PB	2,02	+		*Sph. siccus* var. indologène.
o	+	o	+	+	FA BV	2,20	o	o	*Sph. siccus.*
o	+ 18/24	o	+	±	FA	2,05	o	± ou o	*Sph. siccus* var. *termitidis.*
o	+	+	+	+	FA PB	2,37	+ (traces) ou o	+	*Sph. varius* var. *sulfitoreductans.*
o	+	+	+	+	FA PB	2,46	o	+	*Sph. varius* var. *sulfitoreductans.*
+	+	+	+	+	A PB	2,29	Traces ou o	±	*Sph. varius* var. *sulfitoreductans.*
o	+	+	+	+	FA PB	2,44	o	+	(Ex. *F. fusiformis*), *Sph. varius* var. *sulfitoreductans.*
o	+	+				2,46	o		*Sph. varius* var. *sulfitoreductans.*
±	+	+	+	+	FA PB	2,43	o	+	*Sph. varius* var. *sulfitoreductans.*
o	+	+	+	+	F PB	2,40	o	+	*Sph. varius* var. *sulfitoreductans.*
o	+	+	+	+	FA PB	2,44	Traces	+	*Sph. varius* var. *sulfitoreductans.*
o	+	+	+	+	FA PB	2,37	o	+	*Sph. varius* var. *sulfitoreductans.*
o	+	+	+	+	FA PB	2,30	o	+	*Sph. varius* var. *sulfitoreductans.*
o	+	+	+	+	FA PB	2,49	o	+	*Sph. varius* var. *sulfitoreductans.*
o	+	+	+	+	FA PB	2,31	o	+	*Sph. varius* var. *sulfitoreductans.*
o	+	+	+	+	FA B	2,26	o	+	*Sph. varius* var. *sulfitoreductans.*

bactéries et de flagellés, intervenir dans cette production d'H_2, et dans la dégradation du glucose et autres glucides.

Les bactéries symbiotes des termites ne semblent pas jouer un rôle dans la fixation de l'azote atmosphérique : *R. lucifugus* se développe bien dans une atmosphère artificielle où l'argon remplace l'azote (42). Elles peuvent fournir un apport *vitaminique* ou *protéique* aux termites ou aux flagellés (un rôle semblable est probablement joué par *Bacteroides symbiosus*, bactérie anaérobie symbiote de *Endamœba histolytica* dont la présence à l'état vivant ou non favorise les cultures de cette dernière (Shaffer, 1952 (160)). Diverses substances élaborées par les bactéries ou libérées par elles — lors de leur lyse spontanée ou de leur destruction par dilacération dans le tractus digestif — diffuseraient directement à travers la paroi digestive ou seraient transmises de termite à termite par l'intermédiaire de l'aliment proctodéal (65).

Il est également loisible de penser que cette flore contribue au maintien d'un certain pH ou au maintien d'un Eh bas dans le milieu intestinal. Les bactéries des groupes II et III sont fortement réductrices et l'on sait que les flagellés exigent pour leur survie et leur développement un certain degré d'anaérobiose, et qu'ils sont détruits par suroxygénation prolongée (44).

Les bactéries du groupe II correspondent-elles aux fusiformes de Hoelling ? Si l'on tient compte : 1° de la quasi constance des bactéries du groupe II dans l'intestin de *R. lucifugus*, 2° de leur morphologie très voisine de celle des figures de Hoelling, des *Fusiformis* et des *Sphærophorus*, 3° de la variabilité morphologique des bactéries de ce groupe, 4° de la difficulté rencontrée par les bactériologistes pour différencier *Fusiformis* et *Sphærophorus*, 5° du fait que la présence de *Cytophaga* et autres bactéries cellulolytiques est improbable chez les termites inférieurs, on pourrait envisager d'identifier les bactéries du groupe II avec les fusiformes de Hoelling.

Mais ces bactéries pourraient aussi correspondre à la flore libre intra-intestinale, les fusiformes de Hoelling étant des symbiotes obligés des flagellés. Il est très difficile d'affirmer l'identité d'une souche obtenue en culture pure avec des bactéries symbiotes observées *in vivo*, *a fortiori*, lorsque l'habitat de ces dernières est le milieu intestinal. Il ne nous paraît pas possible d'affirmer que les bactéries du groupe II correspondent aux bactéries observées par Hoelling.

D'où proviennent les bactéries du groupe III isolées à partir de *Blatta orientalis*, et quelle est leur signification ? Si l'une de ces souches provient de l'intestin, les autres ont une origine discutable : il peut s'agir, soit de contaminations par les trachées ou les tubes de Malpighi, soit de parasites intracellulaires des bactériocytes, différents des bactéroïdes, mais voisins

des parasites intracellulaires observés, chez les blattes par Wolf (195), chez de nombreux insectes symbiotiques par Hertig et Wolbach (71). Leur présence certaine dans le tube digestif, jointe à leur pouvoir uricolytique nous incitent à penser qu'elles pourraient provenir des tubes de Malpighi.

Il est intéressant de mettre en évidence, dans le tube digestif de blattes xéniques, l'existence de bactéries anaérobies uricolytiques et sulfitoréductrices, de même sensibilité à la chaleur (*) (68) (116) et aux antibiotiques (29) (31) (59 *b*) que les bactéroïdes. Ceci permet de penser que certains troubles métaboliques observés chez les blattes aposymbiotiques peuvent être dus à la destruction de leur flore intestinale : or, chez les individus aposymbiotiques on observe une accumulation d'urates, surtout chez les adultes (30), et des troubles du métabolisme du soufre (accumulation de sulfites) (24) (70) ; rappelons que, après injection de $^{35}SO_4Na_2$ à des blattes xéniques, des autoradiogrammes montrent que l'intestin et les tubes de Malpighi sont le siège d'une partie des processus de transformation des sulfates en soufre organique (70). Parmi les différentes bactéries isolées de l'intestin des blattes, certaines sont très probablement sulfito-réductrices : *Welchia perfringens*, *Clostridium sporogenes* (cf. références *in* Roth et Willis (154)). Selon Srivastava et col. (1961) (170), les tubes de Malpighi des blattes ne seraient le siège d'aucune activité uricolytique. Cependant la bactérie uricolytique de Keller (84) *(Rhizobium uricophilum)* qui aurait été isolée à partir des bactériocytes, correspond en réalité à une contamination puisqu'elle n'a pas été retrouvée par Haller (68) : il est permis de penser qu'il pourrait s'agir, là aussi, d'une contamination par les tubes de Malpighi ou le contenu intestinal : une flore uricolytique variée existerait à ce niveau.

Il est intéressant de mettre en évidence dans le milieu intestinal et, probablement, dans les tubes de Malpighi de *Blatta orientalis* (Dictyoptères), des bactéries anaérobies uricolytiques et sulfito-réductrices, détruites par les mêmes agents que les bactéroïdes, et voisines, d'autre part, des bactéries de l'intestin postérieur d'un *Rhinotermitidæ*.

2° *Les souches de Collection.*

a) Type fermentaire. — Selon l'équipement enzymatique que possède une espèce bactérienne donnée, le glucose est fermenté en anaérobiose jusqu'à un stade variable ; on appelle « type fermentaire » l'ensemble des

(*) Les souches que nous avons isolées ne résistent pas à un séjour de 15 jours à 39°.

acides fixes (*) et aliphatiques volatils (*) formés en quantités suffisantes pour être décelables dans les milieux de culture ; ils y sont en général recherchés à partir du 10e jour.

Prévot insiste depuis longtemps sur la *valeur spécifique du type fermentaire* (141) (145) : elle ne doit pas être négligée surtout lorsqu'il s'agit de groupes dont les critères différentiels sont peu nombreux. La connaissance du type fermentaire d'une souche de position incertaine peut confirmer ou infirmer son rattachement à telle espèce. La technique chromatographique est la seule donnant des résultats indiscutables ; elle a déjà été appliquée par Prévot et ses collaborateurs à de nombreux genres anaérobies (*Corynebacterium*, *Actinobacterium*, *Clostridium*, etc.).

Nous avons déterminé par chromatographie sur papier le type fermentaire de plus de 100 souches anaérobies Gram-négatives. Les résultats obtenus confirment ces données. Lorsqu'une souche diffère des souches-types par son type fermentaire, d'autres arguments permettent en général de l'éloigner du groupe où elle était incluse primitivement (cf. § II C. 1°, par exemple).

Dans certains cas, le type fermentaire ici établi est reporté individuellement pour chaque souche (tableaux 21, 27) et commenté dans le texte. Mais lorsque toutes les souches identifiées à une espèce donnée ont le même type fermentaire, celui-ci a seulement été précisé dans les tableaux indiquant les caractères différentiels de chaque espèce (tableaux 23, 24, 28).

Dans le tableau 22, le type fermentaire de plusieurs espèces n'a pas pu être étudié faute de souches ; nous reportons alors les types fermentaires établis préalablement par la technique de Duclaux et mentionnés par Prévot (1957) (141).

Les acides lactique et succinique ont été recherchés par technique chromatographique chez toutes les souches du groupe II et III, chez *Sphærophorus varius*, *Sph. siccus*, *Sph. necrophorus*, *Sph. funduliformis*. La formation d'acide succinique à partir du glucose a été signalée pour *Bacteroides symbiosus* par Bragg et Reeves (1962) (27).

b) Mobilité et appareil ciliaire. — Par la technique décrite précédemment, nous avons recherché la présence de cils chez toutes les souches de collection considérées comme mobiles et incluses en conséquence dans les genres *Zuberella* et *Fusocillus*. Il a été ainsi possible de mettre en évidence la ciliature de souches, ou espèces, considérées jusqu'alors comme mobiles, mais atriches, ce qui nous a amenés à réétudier complètement ce groupe. L'ensemble de ces résultats est commenté dans le paragraphe II C. 1°.

(*) Les acides lactique, succinique, formique, acétique, propionique, butyrique, valérianique et caproïque sont désignés par les sigles respectifs suivants : L, S, F, A, P, B, V, C.

c) Gélatine de Cohn. — Si certaines espèces anaérobies sont gélatinolytiques, l'existence d'une gélatinase est très rare chez les bactéries Gram-négatives ; seules quelques espèces en possèdent une : *Sphærophorus gulosus*, *Ristella uniformis*. Ce caractère, lorsqu'il est positif, se manifeste après un séjour de 4 à 6 semaines à 37° s'il est recherché sur gélatine ordinaire. Pour essayer d'obtenir une réponse plus rapide, nous avons utilisé la *technique de Cohn* (gélatine au charbon de bois), généralement utilisée pour les *Enterobacteriaceæ* et donnant un résultat en moins de 24 heures.

Ce test a été appliqué à 50 souches Gram-négatives anaérobies appartenant aux divers genres et espèces étudiées ci-après ; nous n'avons jamais obtenu de réponse positive dans les 24 premières heures, ce qui semble confirmer l'absence de gélatinase dans ce groupe. On observe par contre, très souvent une liquéfaction des gélatines de Cohn au delà de deux mois de séjour à 37°, probablement sous l'influence de l'augmentation du pH du milieu par les catabolites alcalins. L'utilisation de gélatines de Cohn donnant par ailleurs des réponses positives en 24 heures pour les anaérobies gélatinolytiques appartenant à d'autres groupes, ce procédé peut être utilisé couramment pour rechercher cette enzyme et obtenir une réponse rapide. Les résultats obtenus après un séjour prolongé à l'étuve sont dénués de toute signification.

3° *Teneur en bases de l'ADN de 145 souches.*

Les teneurs en bases obtenues sont reportées dans les tableaux 8 à 20 ; les souches sont rangées, pour une espèce donnée, par ordre croissant de leur teneur (A + T)/(G + C). Pour chacun des rapports (A + G)/(C + T), A/T, G/C, moyenne, classe modale et médiane sont très voisines de 1 ; les résultats obtenus sont statistiquement valables (fig. 6).

Dans les pages suivantes sont indiqués la teneur moyenne (A + T)/(G + C) de chaque espèce ou variété et l'écart moyen correspondant (cf. tableau récapitulatif 32). Cet écart moyen par espèce ou variété est le plus souvent inférieur ou égal à 0,06, ce qui est tout à fait comparable aux résultats relevés dans la littérature entre souches d'une même espèce (*Ristella insolita* : 1,37 ± 0,06 ; *Micrococcus pyogenes* : 2,21 ± 0,05 ; *Pseudomonas aeruginosa* : 0,54 ± 0,02 (97)). Cet écart moyen est un peu plus élevé dans quelques cas : *Ristella pseudo-insolita* : 1,29 ± 0,11 ; *Fusiformis fusiformis* : 2,07 ± 0,10 ; *Fusiformis biacutus* : 1,03 ± 0,08 ; *Sphærophorus siccus* var. *termitidis* : 2,05 ± 0,10. Dans certains cas la valeur plus grande des écarts entre souches est liée à des variations de certains de leurs caractères biochimiques, et un écart moyen plus ou moins grand de la teneur (A + T)/(G + C) d'une espèce donnée pourrait refléter la plus ou moins grande « homogénéité » de cette dernière.

TABLEAU 8. — *Teneur en bases puriques et pyrimidiques de l'ADN.*

Bactéries Gram-négatives mobiles (***)		G	A	C	T	$\frac{A+G}{C+T}$	$\frac{A}{T}$	$\frac{G}{C}$	$\frac{A+T}{G+C}$	Écart	Technique (*)
S1	*Bacteroides symbiosus* (**)	31,35	18,40	31,50	18,75	0,99	0,98	0,99	0,59	± 0,05	II
S2	*Id.*	32,0	17,8	32,2	18,0	0,99	0,98	0,99	0,55	± 0,04	II
S3	*Id.*	31,8	18,5	31,45	18,25	1,01	1,01	1,01	0,58	± 0,02	II
S4	*Id.*	32,0	17,3	33,4	17,3	0,97	1,00	0,95	0,52		II
S5	*Id.*	24,60	25,10	24,75	25,55	0,98	0,98	0,99	1,02	± 0,02	II
S6	*Id.*	24,55	25,35	24,50	25,60	0,99	0,99	1,00	1,03	± 0,02	II
ATCC	*Id.*	23,3	26,7	23,2	26,8	1,00	0,99	1,00	1,15		II
LSU	*Id.*	23,95	26,25	23,75	26,05	1,00	1,00	1,00	1,09	± 0,01	II
Zuberella clostridiiformis 219 *b*		22,8	27,1	22,8	27,3	0,99	0,99	1,00	1,19	± 0,16	I
Zuberella clostridiiformis 2150		23,50	27,05	22,30	27,15	1,02	0,99	1,05	1,19	± 0,03	I
Fusocillus pedipedis souche Reeves		23,25	26,3	23,55	26,9	0,98	0,97	0,98	1,13	± 0,05	I
Fusocillus girans 215 *b*		24,9	25,2	24,95	24,95	1,00	1,01	0,99	1,00	± 0,01	II
Fusocillus girans 1391′		23,4	26,0	23,55	27,05	0,97	0,96	0,99	1,12	± 0,03	II
Fusocillus girans 1294		23,4	26,6	23,35	26,65	1,00	0,99	1,00	1,13	± 0,01	II
Fusocillus girans 627		22,90	27,25	23,05	26,80	1,00	1,01	0,99	1,17	± 0,02	II

Fusocillus girans 62.0 Dumas	23,0	27,0	23,2	26,8	1,00	1,00	0,99	1,16		II
Fusocillus girans 1611 B	23,0	27,1	23,0	26,9	1,00	1,00	1,00	1,17		II
Fusocillus girans 128 II	23,2	27,1	22,3	27,4	1,01	0,98	1,04	1,19		I
Fusocillus girans 2013	21,20	28,75	21,10	28,95	0,99	0,99	1,00	1,36	± 0,01	I
Fusocillus girans var. non gazogène 692	16,9	33,2	16,8	33,1	1,00	1,00	1,00	1,92		I
Fusocillus girans 653	17,5	32,6	17,4	32,5	1,00	1,00	1,00	1,86	± 0,02	II
Fusocillus girans 1041 B	16,25	33,60	16,20	33,95	0,99	0,98	1,00	2,08	± 0,02	II
Fusocillus girans 2333	14,65	35,5	14,2	35,65	1,00	0,99	1,03	2,46	± 0,01	II
Fusocillus girans 1669 B	15,1	35,2	14,5	35,2	1,01	1,00	1,04	2,37	± 0,03	II
Fusocillus girans 593 A	15,4	34,6	15,4	34,6	1,00	1,00	1,00	2,24		II
Fusocillus girans 1009 A	15,4	34,6	15,4	34,6	1,00	1,00	1,00	2,24	± 0,02	II
Fusocillus girans 486	14,3	34,7	14,5	36,5	0,96	0,95	0,98	2,46		II
Fusocillus shmaminei 1626 C	19,55	30,6	19,25	30,6	1,00	1,00	1,01	1,57	± 0,03	I
Zuberella serpens 488 B	18,3	32,0	17,7	32,0	1,01	1,00	1,03	1,77		I

(*) Cf. p. 42, p. 43 et remarque (**) p. 45.
(**) S1, S2, ..., S6, ATCC, LSU : *Bacteroides symbiosus* (souches Shaffer).
(***) Pour la détermination des bactéries Gram-négatives anaérobies mobiles, se reporter au tableau XXI.

TABLEAU 9. — *Teneur en bases puriques et pyrimidiques de l'ADN.*

G. Ristella	G	A	C	T	$\frac{A+G}{C+T}$	$\frac{A}{T}$	$\frac{G}{C}$	$\frac{A+T}{G+C}$	Écart	Technique (*)
incommunis De 15	22,15	28,0	22,05	27,8	1,00	1,00	1,00	1,26	± 0,01	I
tumida Meunier II	22,60	27,60	22,45	27,35	1,00	1,00	1,00	1,21	± 0,12	I
pseudoinsolita 2342 A	23,05	28,49	22,25	26,21	1,06	1,08	1,03	1,20	± 0,03	I
pseudoinsolita 2089 (*1)	22,5	27,4	22,5	27,6	0,99	0,99	1,00	1,22	± 0,02	II
pseudoinsolita 2359	21,3	28,7	21,3	28,7	1,00	1,00	1,00	1,34		I
pseudoinsolita 376	20,5	29,5	20,5	29,5	1,00	1,00	1,00	1,43	± 0,01	II
insolita ni 2	21,4	28,7	21,3	28,6	1,00	1,00	1,00	1,34		I
insolita (*1) 2309	21,3	28,65	21,05	29,0	0,99	0,98	1,01	1,36	± 0,02	II
insolita 1617	19,6	31,3	20,0	29,1	1,03	1,07	0,98	1,52		I
distasonis 670	21,10	28,85	21,15	28,90	0,99	0,99	0,99	1,36	± 0,14	I

uniformis 1206 A	18,55	31,45	18,55	31,45	1,00	1,00	1,00	1,69	± 0,01	I
uniformis Te 105 B	18,4	31,35	18,2	32,05	0,99	0,98	1,01	1,73	± 0,02	I
clostridiiformis 85 II (*2)	25,0	25,05	25,0	24,95	1,00	1,00	1,00	1,00	± 0,02	I
clostridiiformis 132 II	20,4	30,6	19,9	29,1	1,04	1,05	1,02	1,48		I
Id.	20,35	29,70	20,40	29,55	1,00	1,00	0,99	1,45	± 0,05	II
clostridiiformis 864	15,40	34,30	15,50	34,80	0,98	0,98	0,99	2,23		I
clostridiiformis 110 III	15,50	34,25	15,40	34,85	0,99	0,98	1,00	2,23	± 0,03	I
perfœtens CCI	15,35	34,85	15,0	34,80	1,00	1,00	1,00	2,29		II

(*) Cf. p. 42 et p. 43 et remarque (**) p. 45.
(*1) Mutant non gazogène.
(*2) Cf. *F. biacutus*.

TABLEAU 10. — *Teneur en bases puriques et pyrimidiques de l'ADN.*

Fusiformis fusiformis	G	A	C	T	$\frac{A+G}{C+T}$	$\frac{A}{T}$	$\frac{G}{C}$	$\frac{A+T}{G+C}$	Écart	Technique (*)
1210	17,0	33,0	17,0	33,0	1,00	1,00	1,00	1,94		I
971	16,9	33,0	16,8	33,3	0,99	0,99	1,00	1,96		I
1789	16,8	34,1	16,8	32,3	1,03	1,05	1,00	1,97		I
2207	15,6	33,5	16,5	34,4	0,96	0,97	0,94	2,11		II
1734 D	15,9	34,1	15,9	34,1	1,00	1,00	1,00	2,14		I
514	15,70	34,25	15,70	34,35	0,99	0,99	1,00	2,18	± 0,01	I
1225	15,75	34,50	15,35	34,40	1,01	1,00	1,02	2,21	± 0,04	I

(*) Cf. p. 42, 43 et remarque (**) p. 45.

TABLEAU II. — *Teneur en bases puriques et pyrimidiques de l'ADN.*

Fusiformis nucleatus	G	A	C	T	$\frac{A+G}{C+T}$	$\frac{A}{T}$	$\frac{G}{C}$	$\frac{A+T}{G+C}$	Écart	Technique (*)
2712 A	14,3	35,5	14,2	36,0	0,99	0,98	1,00	2,50		II
1474	14,2	35,9	14,1	35,8	1,00	1,00	1,00	2,53		I
1597 B	14,1	35,9	14,1	35,9	1,00	1,00	1,00	2,54		I
2550	14,0	36,0	14,0	36,0	1,00	1,00	1,00	2,57		II
1599 A	13,8	36,2	13,8	36,2	1,00	1,00	1,00	2,62		I
1612 A	13,75	36,15	13,85	36,25	0,99	0,99	0,99	2,62	± 0,08	I
679	14,0	35,9	13,6	36,5	0,99	0,98	1,02	2,62		I
2721 A	13,4	34,2	14,1	38,3	0,90	0,89	0,95	2,63	± 0,06	II
1700 A	13,7	35,8	13,7	36,8	0,98	0,97	1,00	2,64		I
Fusiformis hæmolyticus Beerens 38	16,3	33,7	16,3	33,7	1,00	1,00	1,00	2,06		II
Fusiformis nucleatus var. *ochraceus* 1956 C	21,55	28,75	21,30	28,40	1,01	1,01	1,01	1,33	± 0,01	I

(*) Cf. p. 42, 43 et remarque (**) p. 45.

TABLEAU 12. — *Teneur en bases puriques et pyrimidiques de l'ADN.*

Fusiformis polymorphus	G	A	C	T	$\frac{A+G}{C+T}$	$\frac{A}{T}$	$\frac{G}{C}$	$\frac{A+T}{G+C}$	Écart	Technique (*)
846	24,9	25,6	24,0	25,5	1,02	1,00	1,03	1,04		I
226 I	23,2	26,8	23,2	26,8	1,00	1,00	1,00	1,15		I
141 D	23,1	26,4	23,4	27,1	0,98	0,97	0,98	1,15		I
143 D (**)	22,82	28,07	22,26	26,85	1,03	1,04	1,04	1,21		I
Id.	22,40	27,65	22,45	27,50	1,00	1,00	0,99	1,22	± 0,05	I

(*) Cf. p. 42.
(**) Hydrolyse par l'acide formique.

TABLEAU 13. — *Teneur en bases puriques et pyrimidiques de l'ADN.*

Fusiformis biacutus (**)	G	A	C	T	$\frac{A+G}{C+T}$	$\frac{A}{T}$	$\frac{G}{C}$	$\frac{A+T}{G+C}$	Écart	Technique (*)
B 58 (***)	27,45	22,55	27,45	22,55	1,00	1,00	1,00	0,82	± 0,01	I
T 90 (***)	26,25	24,05	26,30	23,40	1,01	1,02	0,99	0,90	± 0,03	I
118 III	25,9	25,5	25,7	22,9	1,05	1,11	1,00	0,93	± 0,03	I
Id. (****)	24,9	21,1	25,4	28,6	0,85	*0,74*	0,98	0,98		I
1648 (****)	26,9	26,4	23,5	23,2	1,14	1,18	1,14	0,98		I
2071	24,6	25,6	24,2	25,6	1,00	1,00	1,01	1,04		I
201 III	24,6	27,1	22,3	26,0	1,07	1,04	1,10	1,13		I
1364 C	23,0	27,7	23,7	25,6	1,02	1,08	0,97	1,14		I
139 I (****)	23,0	27,9	21,6	27,5	1,03	1,01	1,06	1,24		I

(*) Cf. p. 42.
(**) Cf. également 85 II (tableau 9), 1611 B, LSU, S5, S6 (tableau 8).
(***) Souches Bryant et al. (34), *Fusobacterium* sp.
(****) Hydrolyse par l'acide formique.

TABLEAU 14. — *Teneur en bases puriques et pyrimidiques de l'ADN.*

Sphærophorus funduliformis	G	A	C	T	$\frac{A+G}{C+T}$	$\frac{A}{T}$	$\frac{G}{C}$	$\frac{A+T}{G+C}$	Écart	Technique (*)
L 6 (*1)	17,05	32,95	17,0	33,0	1,00	0,99	1,00	1,93	± 0,01	I
B 85 (*1)	17,05	33,0	17,0	32,95	1,00	1,00	1,00	1,93	± 0,01	I
525	16,8	32,95	17,05	33,2	0,98	0,99	0,98	1,95	± 0,01	I
2006	16,6	33,1	17,0	33,3	0,98	0,99	0,99	1,97		I
2014	16,65	33,10	16,80	33,45	0,99	0,98	0,98	1,98	± 0,03	I
2439	16,60	33,35	16,75	33,30	0,99	1,00	0,99	1,99	± 0,01	I
2439	16,7	33,3	16,7	33,3	1,00	1,00	1,00	1,99		II
1788 A	16,19	33,54	16,52	33,75	0,98	0,99	0,98	2,05	± 0,05	I
2628	16,0	33,9	16,6	33,5	0,99	1,01	0,96	2,06		II
1550 A	16,2	33,6	16,1	34,1	0,99	0,98	1,00	2,09		I
1938	15,9	34,4	15,8	33,9	1,01	1,01	1,00	2,15		I

(*) Cf. p. 42, 43 et remarque (**) p. 45.
(*1) Souches Bryant et al. (34) : « *Bacteroides* fermentant lactate et acide butyrique. »

TABLEAU 15. — *Teneur en bases puriques et pyrimidiques de l'ADN.*

g. Sphærophorus	G	A	C	T	$\frac{A+G}{C+T}$	$\frac{A}{T}$	$\frac{G}{C}$	$\frac{A+T}{G+C}$	Écart	Technique (*)
necrophorus 696 D	16,65	34,15	16,60	32,60	1,03	1,04	1,00	2,00		I
pseudonecrophorus 880	16,7	33,3	16,7	33,3	1,00	1,00	1,00	1,99	± 0,03	I
pseudonecrophorus 369 A	16,80	33,30	16,55	33,35	1,00	0,99	1,01	1,99	± 0,05	I
pseudonecrophorus 383	16,75	33,55	16,45	33,25	1,01	1,00	1,01	2,01	± 0,03	I
pseudonecrophorus 470 D	16,35	33,65	16,55	33,45	1,00	1,00	0,98	2,03	± 0,04	I
pyogenes 1748 B	17,05	32,75	17,1	33,1	0,99	0,99	0,99	1,93	± 0,02	I

(*) Cf. p. 42, 43 et remarque (**) p. 45.

TABLEAU 16. — *Teneur en bases puriques et pyrimidiques de l'ADN.*

Sphærophorus ridiculosus	G	A	C	T	$\frac{A+G}{C+T}$	$\frac{A}{T}$	$\frac{G}{C}$	$\frac{A+T}{G+C}$	Écart	Technique (*)
909	21,30	28,55	21,65	28,50	0,99	1,00	1,00	1,32	± 0,03	I
1075	21,19	29,47	20,51	28,83	1,02	1,02	1,03	1,39		I
2623	20,8	29,2	20,8	29,2	1,00	1,00	1,00	1,40		II
1815	21,4	29,6	20,2	28,8	1,04	1,02	1,05	1,40		I
1017 A	20,9	29,2	20,7	29,2	1,00	1,00	1,00	1,40	± 0,06	I
644 (**)	20,85	29,9	20,35	28,9	1,03	1,03	1,02	1,42	± 0,09	I
350 A	20,1	29,9	20,4	29,6	1,00	1,01	0,98	1,46	± 0,06	I
1293 (**)	19,95	29,75	19,95	30,35	0,98	0,98	1,00	1,50	± 0,01	II
470 A	20,8	30,7	19,0	29,5	1,06	1,04	1,09	1,51		I

(*) Cf. p. 42, 43 et remarque (**) p. 45.
(**) Mutant non gazogène.

TABLEAU 17. — *Teneur en bases puriques et pyrimidiques de l'ADN.*

g. Sphærophorus	G	A	C	T	$\frac{A+G}{C+T}$	$\frac{A}{T}$	$\frac{G}{C}$	$\frac{A+T}{G+C}$	Écart	Technique (*)
freundi 956	22,23	27,85	22,22	27,70	1,00	1,00	1,00	1,24	± 0,05	I
freundi 809 B	20,9	28,5	21,3	29,3	0,97	0,97	0,98	1,36	± 0,02	I
glycolyticus 927	22,05	27,85	22,0	28,10	0,99	0,99	1,00	1,27	± 0,15	I
glycolyticus 1005	21,55	28,4	21,5	28,55	0,99	0,99	1,00	1,32	± 0,04	I
glycolyticus 590 A	21,5	28,3	21,1	29,1	0,99	0,97	1,01	1,34		I
gulosus 1072	21,8	28,35	21,6	28,25	1,00	1,00	1,00	1,30	± 0,06	I
gulosus 305	20,5	28,95	21,00	29,55	0,97	0,97	0,97	1,40	± 0,01	II
abscedens 2484 B	23,8	26,6	23,8	25,8	1,01	1,03	1,00	1,10		I
abscedens 2529 C	22,1	27,4	21,7	28,8	0,98	0,95	1,01	1,28		II
abscedens 104 A	22,45	27,25	22,45	27,85	0,98	0,97	1,00	1,22	± 0,05	II

(*) Cf. p. 42, 43 et remarque (**) p. 45.

TABLEAU 18. — *Teneur en bases puriques et pyrimidiques de l'ADN.*

	G	A	C	T	$\frac{A+G}{C+T}$	$\frac{A}{T}$	$\frac{G}{C}$	$\frac{A+T}{G+C}$	Écart	Technique (*)
Leptotrichia vaginalis 2457 B	18,0	31,95	17,95	32,10	0,99	0,99	1,00	1,78	± 0,60	II
Leptotrichia innominata 2353 A	16,3	34,2	16,3	33,2	1,02	1,03	1,00	2,06		I
Leptotrichia sp. Souche Segond 1956 A	14,30	35,4	14,25	36,05	0,98	0,99	1,00	2,50	± 0,08	II

(*) Cf. p. 42, 43 et remarque (**) p. 45.

Dans l'ensemble, pour une espèce donnée, moyenne et médiane sont très voisines. La classe modale est également très voisine des deux valeurs précédentes, et la majorité des souches a une teneur (A + T)/(G + C)

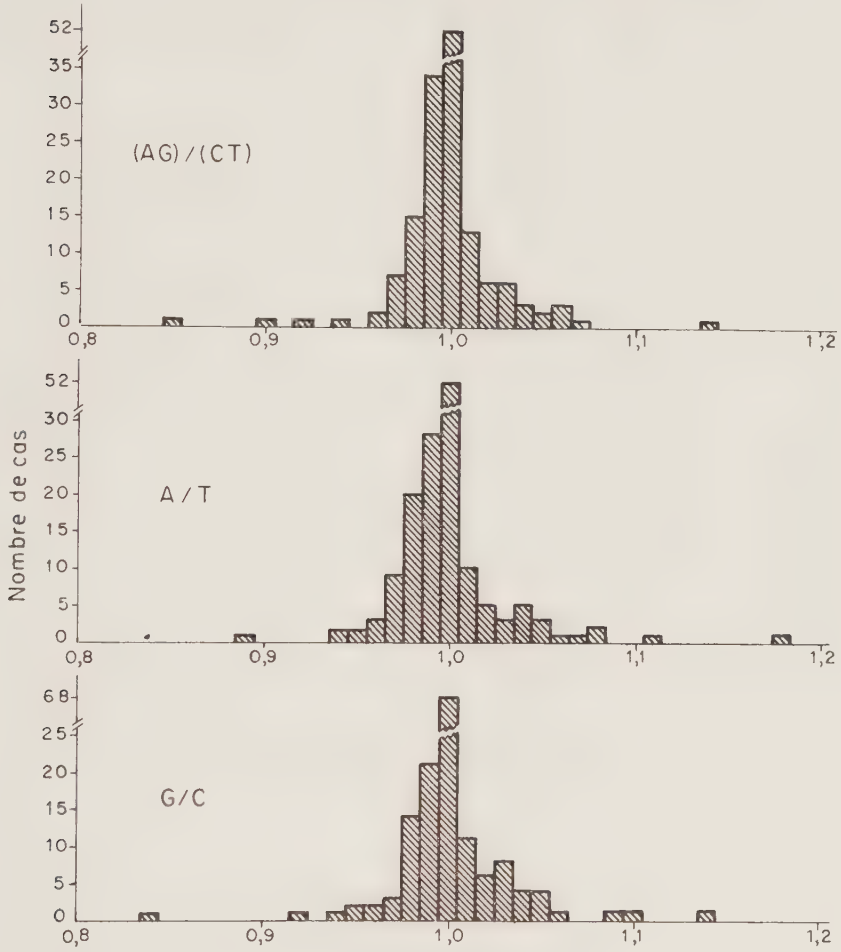

Fig. 6. — Diagrammes statistiques de la variation des teneurs (A + G)/(C + T), A/T, G/C de 145 souches.

comprises entre les limites extrêmes définies par l'écart moyen de l'espèce à laquelle elles appartiennent. Ce rapport est, pour quelques souches, non compris entre ces limites ; s'il en est cependant très voisin, l'écart par rapport à la moyenne n'est pas statistiquement significatif. Dans quelques cas, il semble s'agir d'une erreur expérimentale : une telle signification doit être attribuée à la valeur de 1,24 dans le tableau 13 (teneur

TABLEAU 19. — *Teneur en bases puriques et pyrimidiques de l'ADN.*

Souches des termites « groupe II »	G	A	C	T	$\frac{A+G}{C+T}$	$\frac{A}{T}$	$\frac{G}{C}$	$\frac{A+T}{G+C}$	Écart	Technique (*)
Te 98	18,0	32,3	17,5	32,2	1,01	1,00	1,02	1,81		I
Te 119	16,8	31,8	17,8	33,6	0,94	0,94	0,98	1,89		I
Te 48	17,7	33,5	16,8	32,0	1,04	1,04	1,05	1,89		I
Te 116	16,7	32,9	17,0	33,4	0,98	0,98	0,98	1,96		I
Te 115	16,9	32,8	16,9	33,4	0,98	0,98	1,00	1,96		I
Te 61	16,6	32,2	17,0	34,2	0,97	0,94	0,97	1,97		I
Te 107 A	16,65	33,35	16,65	33,35	1,00	1,00	1,00	2,00	± 0,01	I
Te 96	16,6	33,35	16,50	33,55	0,99	0,99	1,00	2,02	± 0,07	I

Te 46	16,9	34,4	16,1	32,6	1,05	1,05	1,04	2,03		I
Te 57	16,9	33,5	16,1	33,5	1,01	1,00	1,04	2,03		I
Te 109	16,4	33,7	16,25	33,65	1,00	1,00	1,00	2,06		I
Te 55	16,2	34,2	16,3	33,3	1,02	1,02	0,99	2,07		I
Te 118	16,2	33,7	16,3	33,8	0,99	0,99	0,99	2,07		I
Te 126	15,8	34,2	15,8	34,2	1,00	1,00	1,00	2,15		I
Te 110	14,2	33,8	16,9	35,1	0,92	0,96	0,84	2,21		I
Te 106	15,3	34,9	15,4	34,4	1,00	1,01	0,99	2,25		I
Te 95	15,5	34,7	15,0	34,8	1,00	0,99	1,03	2,27		I
Te 111	15,2	34,6	15,3	35,9	0,97	0,97	0,99	2,29		I

(*) Cf. p. 42, 43 et remarque (**) p. 45.

TABLEAU 20. — *Teneur en bases puriques et pyrimidiques de l'ADN du groupe* Sphærophorus varius (*)-siccus.

Sphærophorus	G	A	C	T	$\frac{A+G}{C+T}$	$\frac{A}{T}$	$\frac{G}{C}$	$\frac{A+T}{G+C}$	Écart	Technique (**)
varius 1610	16,40	33,20	16,80	33,60	0,98	0,98	0,96	2,01	± 0,01	I
Id.	16,80	33,40	16,20	33,60	1,00	0,99	1,03	2,03		II
siccus 1802	15,65	34,10	15,60	34,65	0,99	0,98	1,00	2,20	± 0,06	II
varius Bl 15	15,2	34,6	15,4	34,8	0,99	0,99	0,98	2,26		II
varius Te 53	15,35	35,00	15,20	34,45	1,01	1,01	1,01	2,27	± 0,06	II
varius Bl 6	15,10	34,70	15,20	35,00	0,99	0,99	0,99	2,30	± 0,05	II
varius Bl 10	15,1	34,7	15,1	35,1	0,99	0,98	1,00	2,31		II
varius Bl 3	14,80	35,20	14,80	35,20	1,00	1,00	1,00	2,37		II
varius CSB	14,70	35,20	14,70	35,40	0,99	0,99	1,00	2,40		II
varius CSA	14,0	35,8	15,1	35,1	0,99	1,02	0,92	2,43		II
varius Bl 1	14,50	35,65	14,50	35,35	1,00	1,00	1,00	2,44	± 0,03	II
varius 700	14,9	36,6	14,1	34,4	1,06	1,06	1,05	2,44		II
varius 2587	14,7	35,3	14,2	35,8	1,00	0,98	1,03	2,46		II
varius Bl 7 In	14,30	35,10	14,30	36,30	0,97	0,96	1,00	2,49	± 0,01	II

(*) Cf. tableau 8, pour *Sphærophorus varius* # 1669 B et 2333.
(**) Cf. p. 42, 43 et remarque (**) p. 45.

moyenne 1,03 ± 0,08), à celle de 1,51 dans le tableau 16 (teneur moyenne 1,42 ± 0,04), ou à deux valeurs inférieures à 1,95 et à deux valeurs supérieures à 2,15 dans le tableau 19 (teneur moyenne 2,05 ± 0,10).

C. — COMMENTAIRES

I. — Les bactéries Gram-négatives mobiles.

Nous groupons ici quelques remarques et résultats concernant les bactéries Gram-négatives mobiles. Quelques modifications sont apportées à la position systématique de 29 souches antérieurement incluses dans ce groupe. Certains points plus généraux, relatifs à la nomenclature et à la validité des genres *Zuberella*, *Fusocillus*, *Sphærocillus*, seront envisagés ultérieurement.

Les travaux relatifs aux bactéries de ce groupe sont peu nombreux et souvent contradictoires. Ces bactéries mobiles — observées depuis le début du siècle par Plaut (1907), Costa (1909), Shmamine (1912) (*), etc. — sont à l'heure actuelle passées sous silence dans la plupart des clés de détermination et non citées par Leifson (1960) (98) dans son atlas par ailleurs très complet sur la ciliature bactérienne. Dans la 6e édition du *Bergey's Manual* (18) certaines d'entre elles sont peut-être (?) implicitement incluses dans l'espèce *Fusobacterium plauti-vincenti*, définie comme « généralement mobile » ; elles ne sont pas mentionnées dans la 7e édition. Prévot depuis 1938 (130) les différencie au contraire de façon absolue des bactéries Gram-négatives immobiles : il a proposé pour elles les genres nouveaux *Fusocillus*, *Sphærocillus* et *Zuberella* ; il les inclut dans tel ou tel genre selon qu'elles possèdent ou non des sphéroïdes et des extrémités effilées. Le diagnostic de ces espèces (tableau 22) reste cependant difficile en raison de la non-mise en évidence de l'appareil ciliaire de certaines d'entre elles *(Fusocillus girans*, *Zuberella constellata*, *Zuberella nova)*, car il repose alors sur la constatation d'une mobilité.

Aussi, une nouvelle étude de ce groupe était nécessaire : elle a été réalisée à l'aide de souches anaérobies, asporulées, Gram-négatives, dites mobiles, appartenant à la Collection des Anaérobies de l'Institut Pasteur ou y ayant été adressées par le Dr. Reeves (**) et le Dr. Shaffer (***). Elles étaient incluses primitivement dans les genres et espèces suivantes : *Zuberella*

(*) Cités par Weinberg, Nativelle et Prévot (1937) (190).

(**) Dr. Reeves (R. E.). Department of Biochemistry School of Medicine, State University, New Orleans 12 LA. Louisiana (U. S. A.).

(***) Dr. Shaffer (J. G.). Lutheran General Hospital, Park Ridge, Illinois, U. S. A.

serpens (1 souche), *Zuberella clostridiiformis* (2 souches), *Fusocillus girans* (16 souches), *Fusocillus pedipedis* (Prévot) ou *Bacteroides symbiosus* (Reeves, Shaffer) (9 souches), *Fusocillus shmaminei* (1 souche). Les espèces *F. shmaminei* et *Z. serpens* n'étant représentées — dans la collection — que par une seule souche, aucune conclusion ne peut être tirée du fait que ces deux souches sont atriches. En ce qui concerne les autres espèces, elles se sont révélées d'une si grande diversité quant aux cinq caractères suivants : ciliature, pouvoir gazogène en gélose profonde, coagulation du lait, type fermentaire, teneur (A + T)/(G + C), qu'une classification plus logique était nécessaire, et ceci, d'autant plus, que l'inclusion de souches hétérogènes dans une même espèce avait été réalisée parfois sciemment et « faute de mieux » (cas de *F. girans*, Prévot et al., 1951 (142)).

a) Appareil ciliaire. — Prévot (1940) (133) décrit une espèce nouvelle, *Fusocillus girans* (cf. chapitre I A et tableau 22). Le diagnostic de cette espèce reste difficile, l'organe responsable de sa mobilité n'ayant pas pu être mis en évidence de façon certaine (107) (133) (143). A partir de cultures totales ou centrifugées et par coloration de Casarès-Gil modifiée par Levenson ou par microscopie électronique, divers auteurs ne parviennent pas à mettre en évidence de cils, mais une *expansion mucilagineuse* (McDonald et al. (107), Prévot et al. (143)). *F. girans* semblait donc correspondre à un cas de mobilité bactérienne sans cil, explicable par un organe nouveau ; ce diagnostic d'espèce devait logiquement être évoqué devant une mobilité giratoire. Or, si celle-ci est souvent très vive, elle est aussi parfois plus lente ; dans certains cas, les mouvements browniens d'éléments cocco-bacillaires sont confondus avec une telle mobilité.

Un problème assez analogue se pose pour les espèces *Z. constellata* et *Z. nova* ; il n'a pas pu être étudié ici en raison de l'absence de représentants de ces espèces.

Par la technique déjà précisée nous avons recherché l'appareil ciliaire (*) de 18 souches antérieurement identifiées *F. girans* et *Z. clostridiiformis* :

— 8 d'entre elles sont atriches ;

— une souche (1041 B) possède toujours un cil unique polaire ; d'autres caractères l'éloignent du groupe suivant ;

— dans 9 cas il s'agit d'une *ciliature monotriche subpolaire* ou *péritriche*. La forme monotriche subpolaire de type « enroulé » est la plus fréquente ;

(*) Nous avons adopté en ce qui concerne la morphologie, le mode d'insertion des flagelles et leur nombre, la terminologie de Leifson (1960) (98) : les termes « curly » et « coiled » ont été traduits par, respectivement, « ondulé » et « enroulé ». La morphologie ciliaire est décrite selon l'aspect observé par coloration de Leifson. En microscopie électronique l'aspect « ondulé » est en général moindre.

elle est observée tant par coloration de Leifson (fig. 7 *b*) qu'en microscopie électronique (fig. 8 *a*, *b*, *c*1, *c*2). La forme péritriche de type « enroulé » ou « normal » est moins fréquente : pour une même souche, le nombre de cils — toujours faible par coloration de Leifson (fig. 7 *a*, *d*, *e*, *f*) — est beaucoup plus élevé en microscopie électronique (fig. 8 *d*, *e*, *f*). Chez les formes en diplobacilles et les formes filamenteuses, on observe souvent un faux aspect péritriche (fig. 7 *c*) ; mais un examen attentif montre un mode d'insertion subpolaire, à raison d'un cil par bactérie. Une souche (62-0) possède une ciliature péritriche et multitriche polaire (= lophotriche). Le cil est généralement court, de grande amplitude, formant une seule boucle d'enroulement (type « enroulé » de Leifson), d'où aspect d'un demi-cercle ou d'un cercle presque complet (fig. 8 *a* et *b*). Il est fragile, comme en témoignent les nombreux cils séparés des corps microbiens, quelles que soient les précautions prises au cours des manipulations.

Aucune différence n'a pu être établie entre les souches monotriches et péritriches : la forme péritriche peut être interprétée comme une variation de la forme monotriche selon l'opinion de Leifson (98).

Notons enfin que les souches ici étudiées de *Fusocillus girans* possèdent de façon incontestable une paroi (bien que ceci ne soit pas évident sur la figure 8, la mise au point ayant été réalisée sur les cils) ; ceci permet d'infirmer la conception de Gräf précédemment rapportée.

Ces 9 souches, pour des raisons que nous allons préciser ci-dessous, correspondent seules à *Fusocillus girans*. La ciliature de cette espèce est donc *monotriche subpolaire*, plus rarement *péritriche* ; elle est de type « enroulé » (rarement de type « normal »). Son existence ne peut plus être mise en doute.

Parmi les 9 souches identifiées *Fusocillus pedipedis* (Beveridge) ou *Bacteroides symbiosus* (Stevens), trois d'entre elles sont atriches et six sont ciliées : dans deux cas il s'agit d'une ciliature monotriche subpolaire de type « enroulé » tout à fait analogue (*) à celle de *F. girans*, dans quatre cas d'une ciliature péritriche de type « normal » au microscope électronique (fig. 9, # S_2) et « ondulé » par coloration de Leifson (colorations très faciles). Pour des raisons précisées ci-dessous, ces quatre dernières souches seront rattachées à *Fusocillus plauti*.

b) Étude comparée de ces souches et commentaires. — A l'aide des cinq caractères précédemment rappelés, nous avons tenté une classification plus logique de ces souches. Elles sont rangées dans le tableau 21 selon l'ordre mettant le mieux en évidence leurs caractères (cf. aussi tableaux 8 et 22).

(*) Tant au microscope électronique que par coloration de Leifson.

TABLEAU 21. — *Bactéries Gram-négatives « mobiles ».*

N° de la souche et identification primitive	Pouvoir gazogène en gélose profonde	Coagulation du lait	Ciliature	Acides volatils	$\frac{A+T}{G+C}$	Caractères particuliers	Classification proposée
Fusocillus girans 2013	+	+	Monotriche subpolaire parfois péritriche.	FA	1,36	Diplobacilles effilés.	*Fusocillus girans.*
Fusocillus girans 128 II	+	+	Monotriche subpolaire et péritriche	FA	1,19	*Id.*	*Fusocillus girans.*
Fusocillus girans 627	+	+	Monotriche subpolaire de type enroulé.	FA	1,17	*Id.*	*Fusocillus girans.*
Fusocillus girans 62-0	+	+	Péritriche et lophotriche.	FA	1,16	*Id.*	*Fusocillus girans.*
Fusocillus girans 139 I'	+	+	Monotriche subpolaire parfois péritriche.	FA	1,12	*Id.*	*Fusocillus girans.*
Fusocillus girans 215 *b*	+	+	Monotriche subpolaire de type enroulé.	FA	1,00	*Id.*	*Fusocillus girans.*
Fusocillus girans 653	+	o	Monotriche subpolaire de type enroulé	FAPB	1,86	*Id.*	*Sphærocillus* (?) ou *F. girans* var. atypique.
Zuberella clostridiiformis 2150	+	o	Monotriche subpolaire parfois péritriche.	FA	1,19	*Id.*	*Fusocillus girans* var. lait o.
Fusocillus girans 1294	+	o	Monotriche subpolaire de type enroulé.	FA	1,13	*Id.*	*Fusocillus girans* var. lait o.
Bacteroides symbiosus (*), *Fusocillus*	+	o	Monotriche subpolaire de type enroulé.	AB	1,15	*Id.*	*Fusocillus pedipedis.*

Fusocillus pedipedis souche Reeves	+	o	Monotriche subpolaire de type enroulé.	AB	1,13	*Id.*	*Fusocillus pedipedis.*
Fusocillus girans 1041 B	o	o	Unique polaire	FAPB	2,08	Extrémités arrondies ; nombreux sphéroïdes; cultures fétides.	*Sphærocillus bullosus* var. non gazogène (?) Vibrio (?)
Zuberella clostridiiformis var. non gazogène 219 *b*	o	o	o	FAPB ±	1,19	Diplobacille effilé.	*Fusocillus girans* var. atypique (?) (var. cil o, lait o, gaz o).
Fusocillus girans 2333	+	o	o	FAPB	2,46	Sphéroïdes et navettes ; extrémités arrondies ou effilées ; fétide.	*Sphærophorus varius.*
Fusocillus girans 1669 B	+	o	o	FAPB	2,37	Sphéroïdes et navettes ; pas d'extrémités effilées ; fétide.	*Sphærophorus varius.*
Fusocillus girans 486	o	+	o	FAPB	2,46	Extrémités arrondies ou effilées ; col. bourgeonnantes.	*Fusiformis nucleatus* var. non sérophile.
Fusocillus girans 1009 A	o	+	o	FAB	2,24	Bat. à coloration bipolaire.	*Sphærophorus influenzæformis.*
Fusocillus girans 593 A	o	+	o	FAPB	2,24	Bat. fin souvent filamenteux, extrémités arrondies.	*Sphærophorus influenzæformis.*
Fusocillus girans 692	o	+	o	FAPB	1,92	Sérophile obligé.	*Ristella uniformis.*
Fusocillus girans 1611 B	+	o	o	FA	1,17	Diplobacilles effilés.	*Fusiformis biacutus* var. lait o.

(*) Shaffer.
(**) Prévot.

TABLEAU 21 *(Suite)*

N° de la souche et identification primitive	Pouvoir gazogène en gélose profonde	Coagulation du lait	Ciliature	Acides volatils	$\frac{A+T}{G+C}$	Caractères particuliers	Classification proposée
Bacteroides symbiosus (*) *Fusiformis pedipedis* (**) LSU	+	o	o	AB	1,09	Diplobacilles effilés.	*Fusiformis biacutus* var. lait o.
Id. S6	+	o	o	AB	1,03	*Id.*	*Id.*
Id. S5	+	o	o	AB	1,02	*Id.*	*Id.*
Id. S1	o	o	Péritriche 2-4 cils type ondulé.	AB	0,59	Extrémités effilées ou arrondies.	*Fusocillus plauti.*
Id. S3	o	o	Péritriche type ondulé.	AB	0,58	*Id.*	*Id.*
Id. S2	o	o	Péritriche type ondulé.	AB	0,55	*Id.*	*Id.*
Id. S4	o	o	Péritriche type ondulé.	AB	0,52	*Id.*	*Id.*
Fusocillus shmaminei 1626 C	o		o		1,57	Col. ocres ouatées; sérophiles.	*Fusiformis nucleatus* var. *ochraceus.*
Zuberella serpens 488 B	o		o		1,77	Sérophile.	?

(*) Shaffer.
(**) Prévot.

1° *Fusocillus girans* et *Zuberella clostridiiformis*. — Les souches de *F. girans* de la Collection des Anaérobies sont, soit d'origine humaine (appendicite aiguë, suppurations diverses), soit d'origine animale. Celles du premier groupe ont été à l'origine de la description de cette espèce et nous soulignons que leur identification ne sera pas modifiée dans ce travail : les souches historiques de l'espèce *F. girans* resteront bien incluses dans l'espèce *girans* (≠ 128 II, 139 I′, 215 *b*). Les souches d'origine animale ont été isolées surtout chez le chat au cours de suppurations à grains blancs par Prévot, Goret et al. (1951) (142) : ces auteurs avaient alors noté que « les souches félines, apparaissent comme des variétés de l'espèce normale, pathogène pour l'homme, isolée dans l'appendicite et l'entérocolite », en différant par un ou plusieurs des caractères suivants : pouvoir gazogène, sérophilie, odeur, type fermentaire. Ils les avaient cependant rattachées à l'espèce *F. girans* en raison de l'observation d'une mobilité giratoire.

Remarquons enfin que le diagnostic différentiel entre les espèces *F. girans* et *Z. clostridiiformis* reposait surtout sur la présence de cils chez cette dernière espèce. La mise en évidence de cils chez *F. girans* nous obligera à reconsidérer ce problème.

Parmi les dix souches ciliées (tableau 21), huit forment un groupe homogène : ce sont des diplobacilles effilés qui donnent des cultures non fétides, toujours gazogènes : ils ont une ciliature monotriche subpolaire ou péritriche, produisent les acides formique et acétique ; leur rapport (A + T)/(G + C) est voisin de 1,16 ; 6 sur 8 coagulent le lait. Nous les considérons comme des souches-types de l'espèce *F. girans*. La variation « lait non coagulé » peut être considérée comme mineure puisqu'elle est isolée.

La souche 653 diffère de ce groupe par son type fermentaire (F A P B) et son coefficient (A + T)/(G + C) de 1,86. Notons son origine animale (actinomycose du chat). Elle ne coagule pas le lait. Sa morphologie identique à *F. girans* permet de la maintenir provisoirement dans cette espèce dont elle constitue une variété atypique.

Par contre, la souche 1041 B, quoique mobile, ne peut pas rester incluse dans cette espèce dont elle ne possède aucun caractère : absence de pouvoir gazogène, cultures fétides, extrémités arrondies, lait non coagulé, type fermentaire F A P B, (A + T)/(G + C) = 2,08. Ce dernier caractère la rapprochant d'ailleurs du g. *Sphærophorus*, elle pourrait être incluse dans le genre mobile voisin, *Sphærocillus*, et identifiée : *Sph. bullosus* (variété non gazogène).

Parmi les souches atriches les caractères précités sont toujours variables ; la plupart sont de type AT extrême, elles produisent plusieurs acides

TABLEAU 22. — *Diagnostic différentiel des bacté*
(*g.* Fusocil

Espèces	Mobilité et cils	Morphologie	Gaz	Colonies	Séro phil
F. girans	Monotriche subpolaire parfois péritriche.	Diplobacilles effilés, sphéroïdes.	+	Lenticulaires.	o
Z. clostridiiformis	Monotriche subpolaire parfois péritriche.	Diplobacilles effilés, renflements, chaînettes.	+	Lenticulaires.	o
F. pedipedis	Monotriche subpolaire (et péritriche)	Bâtonnet effilé, chaînettes.	+	Lenticulaires.	o
F. shmaminei	+ (?)	Extrémités effilées.	o	Flocons.	+
F. plauti	Péritriche.	Fuseau de grande taille.	o	Punctiformes et lenticulaires.	+ au dép
Z. serpens	Péritriche.	Bâtonnets en chaînes ou paires ; extrémités arrondies.	+	Lenticulaires.	o
Z. praeacuta	+	Extrémités effilées, paires, chaînettes.	+	Lenticulaires.	o
Z. nova	Giration ; cils non colorés.	Extrémités effilées ; paires et chaînettes.	+	Lenticulaires + halo.	o
Z. aquatilis	Péritriche.	Bâtonnets isolés ; paires ; filaments.	+		o
Z. constellata	Giration ; cils non colorés.	*Id.*	+	Punctiformes + petites colonies constellées.	+
Z. variegata	+ (?)	Polymorphe.	o	Lenticulaires.	o

(*) Type fermentaire déterminé par la méthode de Duclaux.

ram-négatives mobiles, asporulées
Zuberella) (*).

Odeur	Coag. lait	Gélatine	H_2S	Indole	Nitrates	Glucides	Acides volatils	$\frac{A+T}{G+C}$
o	+	o	+	o	o	Gluc., lév., lact., malt., gal., arab., sacch.	FA	1,16
o	o	o	+	o	o	Gluc., lév., malt., gal., sacch., arab.	FA	1,16
o	o	o	o	o	o		AB	1,14
o	o	o	+	±	o	Gluc.	FP (*)	?
±	o	o	o			Gluc., lév., malt.	AB	0,55
Fétide	+	+	+	o	o	Gluc., lact., malt., lév., gal., dext.	AP (*)	?
o	o	o	+	o	+	Gluc.	AB (*)	?
o	+	+	+		o	Gluc., lév., malt., gal., lact.	FB (*)	?
o	o	o	o			Gluc., lév., malt., gal., lact., sacch.	?	?
o	+	o	+		+	Gluc., malt., amid.	A (*)	?
	+	o		+		Gluc., lact.	?	?

volatils, leur morphologie n'est pas celle d'un *Fusocillus*. Tenant compte de l'ensemble de leurs propriétés elles sont ainsi reclassées :

— Les souches 1669 B et 2333 sont rattachées au g. *Sphærophorus*, groupe gazogène et non hémolytique (141) : il s'agit de *Sph. varius* var. *sulfitoreductans* (cf. tableaux 7, 20, 21 ; voir aussi p. 122).

— Les souches 1009 A et 593 A appartiennent au groupe non gazogène du même genre ; leurs caractères permettent de les identifier comme étant *Sph. influenzæformis ;* l'absence de formation de gaz et leur morphologie non effilée les différencient de *Ristella clostridiiformis*, malgré une même teneur (A + T)/(G + C).

— La souche 692, non gazogène, sérophile obligée, dont la teneur (A + T)/(G + C) est de 1,92, peut être considérée comme voisine de la souche 1206 A et, pour les mêmes raisons, identifiée provisoirement : *Ristella uniformis.*

— Nous identifions la souche 486 comme étant *Fusiformis nucleatus* dont elle possède tous les caractères ; sa teneur (A + T)/(G + C) de 2,46 confirme ce rapprochement. Elle n'en diffère que par sa sérophilie non obligatoire.

— La souche 1611 B est un bâtonnet effilé (groupements en diplobacilles) donnant des cultures gazogènes ; son rapport (A + T)/(G + C) de 1,17 et son type fermentaire (F A) permettent d'autre part de la rattacher à *Fusiformis biacutus* (variété lait non coagulé).

— Enfin la souche 219 *b* mérite une attention spéciale. Elle avait primitivement été identifiée par Prévot comme étant *Z. clostridiiformis* var. non gazogène. Il s'agit d'un diplobacille effilé atriche, ne coagulant pas le lait et non gazogène. Son coefficient (A + T)/(G + C) est identique à celui de *F. girans.* Il existe donc deux possibilités :

1° en raison de l'absence de cils, l'éliminer des genres mobiles *Fusocillus* ou *Zuberella* et la rattacher à *F. biacutus* dont elle constituerait une variété non gazogène et ne coagulant pas le lait ;

2° considérer cette souche comme un variant multiple de *F. girans* (variété « cils 0, gaz 0, lait 0 ») dont le coefficient (A + T)/(G + C) est resté inchangé (1,19).

Un argument est très en faveur de cette dernière hypothèse : cette souche provenait d'une appendicite aiguë et, dans le même prélèvement, Prévot a isolé *F. girans* (≠ 219 *d*, certainement typique puisque mobile, gazogène et coagulant le lait ; n'ayant pas été conservée, il n'a pas été possible de vérifier chez elle la présence de cils et une teneur (A + T)/(G + C) caractéristique de l'espèce *girans*). La souche 219 *b* pourrait ainsi être un variant multiple de la souche 219 *d* ; elle fournirait alors l'exemple du maintien de la valeur spécifique du coefficient (A + T)/(G + C) malgré une muta-

tion portant sur plusieurs caractères ; il serait intéressant de vérifier cette hypothèse en transformant la souche 219 *b* à l'aide d'un ADN de *F. girans* typique, ou en hybridant leurs ADN (ceci pourrait également être tenté sur un plan plus général entre *Fusocillus girans* et *Fusiformis biacutus*).

Il faut enfin réenvisager le problème du diagnostic différentiel de *F. girans* et de *Z. clostridiiformis* dont tous les caractères sont identiques, en dehors de la non-coagulation du lait et de l'absence de fermentation du lactose par *Z. clostridiiformis ;* or, il existe des souches de *F. girans* chez lesquelles ces deux caractères sont aussi négatifs. L'existence d'un même type de ciliature, d'un même type fermentaire et d'une même teneur (A + T)/(G + C) nous semble permettre de considérer comme identiques ces deux espèces. Quelle dénomination doit-on conserver ? En raison : 1° de la confusion possible entre deux espèces différentes mais de morphologie voisine, l'une immobile *Ristella clostridiiformis* (Burri et Ankersmit, 1906), l'autre mobile *Zuberella clostridiiformis* (Choukevitch, 1911), avec priorité de date pour la première citée, 2° du fait que les souches de Choukevitch n'ont pas été conservées, alors que les souches historiques de *Fusocillus girans* l'ont été, et que cette espèce a été décrite avec plus de précision, nous proposons de rattacher *Zuberella clostridiiformis* à *Fusocillus girans ;* la dénomination de *clostridiiformis* sera réservée aux souches immobiles appartenant à l'espèce *Ristella clostridiiformis.*

Il est d'autre part possible de réfuter de façon absolue l'opinion de Gräf (64) déjà rappelée selon laquelle *Fusocillus girans* appartient à la classe des *Myxobacteriales* et est voisin de *Sporocytophaga myxococcoides : F. girans* possède, contrairement à *S. myxococcoides*, une ciliature et une paroi cellulaire ; la teneur (A + T)/(G + C) de *F. girans* (1,16) est très différente de celle de *S. myxococcoides* (2,0) (*).

2° *Fusocillus pedipedis* et *Bacteroides symbiosus.* — *F. pedipedis* (Beveridge, 1941) Prévot (1948) est une espèce voisine de la précédente : même type de ciliature (**), type fermentaire acétique-butyrique (au lieu de formique-acétique), non coagulation du lait. Nous avons maintenu dans cette espèce deux souches (« ATCC » et « Reeves ») préalablement identifiées *Fusocillus pedipedis* par Prévot et *Bacteroides symbiosus* par Shaffer ou Reeves. Leur teneur (A + T)/(G + C) est de 1,14 ± 0,01 c'est-à-dire très voisine de celle de *Fusocillus girans.* Ceci confirme encore leur parenté.

(*) Résultat personnel inédit, établi à l'aide de la souche B482. Nous remercions M. J. Pochon et Mme Charpentier qui nous ont aimablement fourni une culture de cette souche.

(**) Les souches de Beveridge sont décrites comme péritriches alors que celles ici étudiées sont monotriches : cette variation est possible pour l'espèce *girans* ; elle l'est donc aussi pour l'espèce *pedipedis.*

Étudiant sept souches identifiées par Shaffer *B. symbiosus* Stevens (*) et par Prévot *F. pedipedis*, nous avons cru pouvoir les différencier en deux groupes :

— trois d'entre elles (≠ S_5, S_6, LSU) sont des diplobacilles effilés, atriches gazogènes en gélose profonde, ne coagulant pas le lait ; leur type fermentaire est acétique-butyrique et leur rapport (A + T)/(G + C) varie de 1,02 à 1,09. Nous les rattachons donc à l'espèce *Fusiformis biacutus* var. lait non coagulé ; il est à noter que l'une d'elles (≠ S_5) se caractérise par la production d'une bactérioglée abondante ;

— quatre de ces souches (≠ S_1, S_2, S_3, S_4) sont des bâtonnets droits, de plus grande taille (10 μ), à extrémités tantôt arrondies, tantôt effilées et assez polymorphes ; elles sont péritriches (2 à 4 cils par bactérie, de type « normal » ou « ondulé » (fig. 9)) ; les cultures sont gazogènes ; leur ADN est de type GC ((A + T)/(G + C) = 0,55 ± 0,04). L'ensemble de leurs caractères biochimiques et culturaux nous autorise à les considérer comme appartenant à l'espèce *Fusocillus plauti* ; malgré l'absence dans la collection de souches de référence de cette espèce, c'est à cette dernière qu'elles se rattachent logiquement (**). L'ADN de type GC de *F. plauti* permet de douter de sa parenté avec *F. girans* et *F. pedipedis*. L'existence de bâtonnets droits, non incurvés et d'une ciliature péritriche, permettent d'exlure *F. plauti* des autres genres mobiles *Lachnospira*, *Spirillum* et *Selenomonas* (80) (83). Il ne semble pas possible d'identifier *Selenomonas sputigena* (Flügge) Von Prowazek et *Fusocillus plauti* (Plaut) Prévot, comme l'envisage Baird-Parker (1960) (1) ; rappelons que Von Prowazek avait proposé le genre *Selenomonas* pour désigner des bactéries arquées possédant une touffe de flagelles insérée sur leur face concave. Lessel et

(*) Il s'agit de bactéries anaérobies généralement associées à *Endamœba histolytica* ; Shaffer les avait d'abord incluses dans le g. *Streptobacillus* et depuis 1952 (160) il estime qu'elles sont à rattacher au g. *Bacteroides*. Stevens (1956) (173) se rallie à cette opinion et propose pour elles la dénomination de *Bacteroides symbiosus*.

(**) La division ainsi établie entre les souches de Shaffer concorde bien avec les observations de cet auteur communiquées à Prévot et avec celles de Prévot et Thouvenot (inédites) : les souches S_1, S_2, S_3 et S_4 ont des caractères culturaux identiques et une communauté antigénique (le sérum anti-S_1 agglutine au 1/1 000 ces 4 souches) alors qu'elles ne possèdent pas d'antigène commun avec les souches S_5, S_6, LSU, ATCC. Selon Shaffer les souches S_5, S_6 et ATCC sont voisines morphologiquement mais antigéniquement différentes des souches S_1 à S_4 ; ≠ S_5 paraît antigéniquement différente ; ≠ S_6 et ATCC sont liées mais non antigéniquement. Il n'existe donc aucune communauté antigénique entre *Fusocillus plauti* et *Fusocillus pedipedis-Fusiformis biacutus*. Shaffer distingue, parmi ses souches de *Bacteroides symbiosus*, 3 types antigéniques et 2 types culturaux. Ses résultats concordent tout à fait avec ceux ici obtenus mais cet auteur n'avait pas pu mettre en évidence la ciliature (ni semble-t-il la mobilité) de certaines de ces souches.

Breed (1954) (99) puis Jeynes (1955) (79) ont précisé que les cils de *Sel. palpitans* et de *Sel. sputigena* se colorent au Giemsa et par les colorants usuels, et que, à l'examen au microscope électronique, ils se révèlent formés de nombreuses et fines fibrilles. Ces faits sont confirmés par Leifson (1960) (98).

Conclusions

1° Toutes les souches atriches primitivement incluses dans le groupe des bactéries Gram-négatives mobiles, doivent en être éliminées et rattachées aux genres *Ristella*, *Fusiformis* ou *Sphærophorus*.

2° La morphologie ciliaire de *Fusocillus girans* a été précisée ; elle est monotriche subpolaire, plus rarement péritriche, de type « enroulé » (rarement de type « normal ») ; il a été montré que l'espèce *Zuberella clostridiiformis* est identique à *Fusocillus girans*.

3° *Fusocillus girans* et *Fusocillus pedipedis* sont deux espèces très voisines dont les teneurs (A + T)/(G + C) sont peu différentes de 1,15 ; ceci éloigne *Fusocillus girans* de *Sporocytophaga myxococcoides* ((A + T)/(G + C) : 2,0).

4° Quatre souches primitivement identifiées *Bacteroides symbiosus* sont identifiées ici *Fusocillus plauti* et sont caractérisées par le type GC de leur ADN. L'espèce *plauti* ne doit pas être incluse dans le genre *Selenomonas*. Les bactéries Gram-négatives dites mobiles montrent l'intérêt de la connaissance de la teneur (A + T)/(G + C) dans la détermination d'une souche bactérienne ; jointe à l'ensemble de leurs caractères phénotypiques elle permet de les classer de façon plus logique.

II. — Le genre Ristella *Prévot 1938. Etude comparée de huit espèces.*

Nous avons rappelé antérieurement les raisons pour lesquelles Prévot a démembré en 1938 (130) le genre *Bacteroides* Castellani et Chalmers, 1919. Il proposa le genre *Ristella* pour grouper les « bâtonnets simples, aciliés, immobiles, droits ou légèrement infléchis, non encapsulés, Gram-négatifs, anaérobies stricts ». L'absence de ramifications et de sphéroïdes permet de les différencier du g. *Sphærophorus*. Il comprend selon Prévot (141) 28 espèces qui sont incluses dans les diverses éditions du *Bergey's Manual* dans le g. *Bacteroides*. La validité du terme *Ristella* n'est pas admise par certains auteurs : selon Lessel (1960) (100) ce terme générique est l'homonyme postérieur du g. *Bacteroides* Castellani et Chalmers, 1919.

Il était donc intéressant de rechercher si toutes les espèces groupées par

Prévot dans le g. *Ristella* étaient homogènes quant à la teneur en bases de leur ADN, ce qui pouvait être mis en doute en raison des résultats obtenus par Lee et coll. (97) concernant *R. insolita* et *R. clostridiiformis*. Après avoir examiné les diverses espèces des genres *Fusiformis* et *Sphærophorus*, ces genres pourront être comparés.

L'étude de 17 souches appartenant à 8 espèces du genre *Ristella* a été réalisée. Leurs caractères différentiels sont résumés dans le tableau 23. Leurs teneurs (A + T)/(G + C) sont les suivantes (* :

— *R. clostridiiformis* (≠ 864 et 110 III) : 2,23 ± 0,01 ; les valeurs différentes obtenues avec les souches 85 II et 132 II permettent de douter qu'elles appartiennent à cette espèce. On peut envisager le rattachement de la souche 85 II à *Fusiformis biacutus*. La souche 132 II pourrait également être rattachée à cette dernière espèce, mais elle en constituerait une variété très atypique (**).

— *R. perfœtens* (≠ CCI) : 2,29.

— *R. incommunis* (≠ De 15) : 1,26.

— *R. insolita* (3 souches) : 1,40 ± 0,04. Ce résultat est très voisin de celui de Lee et al. (97) obtenu avec 2 souches : 1,37 ± 0,06. Chez la souche 2309, la variation « non gazogène » ne s'accompagne pas d'une modification de ce coefficient.

— *R. pseudoinsolita* (4 souches, dont une non gazogène) : 1,29 ± 0,11.

— *R. uniformis* (2 souches, dont une sérophile obligée) : 1,71 ± 0,02.

— *R. distasonis* (≠ 670) : 1,36.

— *R. tumida* (≠ Meunier II) : 1,21.

Il existe donc 3 groupes : les espèces *incommunis*, *insolita*, *pseudoinsolita*, *distasonis* et *tumida* ont une teneur (A + T)/(G + C) voisine, comprise entre 1,21 et 1,40 ; les espèces *clostridiiformis* et *perfœtens* sont de type AT extrême (> 2) ; l'espèce *uniformis* occupe une place intermédiaire. Les cinq premières espèces citées forment un groupe homogène et possèdent d'ailleurs tous les caractères morphologiques du g. *Ristella*. Un type AT voisin de 2,2 permet par contre de douter de la validité de la position systématique actuelle des espèces *perfœtens* et *clostridiiformis*. Deux constatations doivent en être rapprochées :

1° La dénomination même de *clostridiiformis* montre que, depuis longtemps, leur morphologie atypique est connue : on observe souvent des formes renflées avec espaces clairs évoquant une spore clostridienne.

2° L'espèce *perfœtens* a aussi une morphologie très atypique : nous avons vérifié ce fait avec la souche CCI (formes coccoïdes de petite taille, 2 μ environ, très nombreuses). Ce caractère est connu depuis longtemps, puis-

(*) Cf. tableau 9.
(**) Cf. tableau 27.

TABLEAU 23. — *Diagnostic différentiel des espèces les plus fréquentes du g.* Ristella *Prévot.*

Espèces	Morphologie	Gaz	Odeur	Gélatine	Lait	H_2S	Indole	NO_3	Glucides	Acides volatils	$\frac{A+T}{G+C}$
clostridiiformis	Bâtonnets effilés, renflements médians.	+	o	o	o	+	+	o	Gluc., lév., malt., gal., sacch., arab.	FA	2,23 ± 0,01
perfœtens	Bâtonnets courts, ovoïdes et formes coccoïdes.	+	++	o	o	+	o	o	Gluc., sacch.	APB	2,29
incommunis	Bâtonnets de morphologie régulière.	+	o	o	o	+	o	o	Gluc., lév., gal., sacch., lact., arab., raff., xyl., dext., inul.	FAPB	1,26
insolita	*Id.*	+	o	o	+	+	+	o	Gluc., lév., malt., gal., lact., mann., glyc.	APB	1,40 ± 0,04
pseudoinsolita	*Id.*	+	±	o	++	+	o	o	Gluc., lév., malt., gal., sacch., lact.	APB	1,29 ± 0,11
uniformis	*Id.*	o	o	+	+	+	+	o	Gluc., lév., malt., gal., sacch., lact., xyl., arab., dext., inul., amid., glyc.	AP	1,71 ± 0,02
distasonis	*Id.*	o	o	+ ou o	+	+	o	o	Gluc., lév., malt., gal., sacch., raff., inul., dext., amid.	APB	1,36
tumida	*Id.*	o	o	+	o	+	o	o	Gluc., lév., malt., gal., sacch., raff., inul., dext., amid.	FAPB	1,21

que Tissier en 1900 (cité par Weinberg et al. (190)), lorsqu'il décrivit cette espèce, la rattacha au genre *Coccobacillus*. Secondairement, Tissier et d'autres auteurs constatèrent la présence de la forme bacillaire et l'inclurent dans des genres divers : *Bacterium* (Tissier), *Bacteroides* (Hauduroy), *Ristella* (Prévot).

Il est donc logique d'envisager l'exclusion des espèces *clostridiiformis* et *perfœtens* du g. *Ristella*.

III. — Le genre Fusiformis *(Hœlling) Prévot 1938* (*).

Comme il a été rappelé dans l'historique, le genre *Fusiformis* manque de limites précises, sa position taxinomique est incertaine, les relations entre ses espèces sont mal connues, et la nomenclature de celles-ci controversée. Ces données sont résumées dans le tableau 1. Quelques points méritent d'être examinés ici plus en détail. Si l'on veut faire abstraction des divergences de nomenclature relatives aux espèces de ce genre, on s'aperçoit que tous les problèmes en suspens n'en sont pas pour autant résolus. Les équivalences généralement admises et reportées dans le tableau 1 sont en réalité assez imprécises, en particulier en ce qui concerne les espèces *fusiformis* et *polymorphus* : l'examen des tableaux 25 et 26 montre qu'il s'agit d'autre chose que d'une « querelle de taxinomistes » ... et que les synonymies *Fusobacterium fusiforme* (Veillon et Zuber, 1898) Bergey (1957) et *Fusiformis fusiformis* (Vincent, 1896) Prévot (1957) d'une part, *Fusobacterium polymorphum* (Knorr) Bergey, 1957 et *Fusiformis polymorphus* (Knorr) Prévot (1957) d'autre part, sont probablement erronées. Il est, au contraire, plus probable que *F. fusiforme* (Veillon et Zuber) Bergey est identique à *F. polymorphus* (Knorr) Prévot : ces espèces ont des caractères identiques (gaz : O, odeur : O, indole : O, SH_2 : O, NO_3 :O, fermentations des glucides voisines) ; elles sont toutes deux rares tant dans les pays anglo-saxons qu'en France ; il n'existe dans la Collection des Anaérobies de l'Institut Pasteur de Paris que 4 souches de *F. polymorphus* ; Baird-Parker (1) ne maintient que quelques souches dans l'espèce « *Fusobacterium fusiforme* Prévot et Taffanel, 1942 ». Prévot doute de l'existence de *F. polymorphus*, Baird-Parker de celle de *F. fusiforme*. Enfin rappelons que *Fusobacterium plauti-vincenti* (Knorr) et *Fusobacterium polymorphum* (Knorr) ont été très imparfaitement décrits et que *F. plauti-vincenti* (Knorr) Bergey (1948) est identique à *F. fusiforme* (Veillon et Zuber) Bergey (1957).

(*) Cf. tableaux 10 à 13 et 24.

TABLEAU 24. — *Diagnostic différentiel des espèces du g.* Fusiformis *(Hoelling) Prévot.*

Espèce	Sérophilie	Gaz	Odeur	Gélatine	Lait	Indole	H_2S	NO_3	Glucides	Type fermentaire	A + T / G + C
fusiformis	Obligée au départ	Très peu ou o	Fétide	o	+ ou o	++	+	o	Gluc., lact., mann., (lév., gal., arab., xyl. ±).	FABP/L	2,07 ± 0,10
nucleatus	Obligée	o	Fétide	o	o	+	+	+ ou o	Gluc., lév., sacch., lact., gal.	FABP/L	2,59 ± 0,03
hæmolyticus	o	+ peu	Fétide	o	o	+	+	o	Gluc. + ; lév. et sacch. ±.	AB/L	2,06
polymorphus	o	o	o	o	+	o	+ traces	o	Gluc., lév.	FAB	1,13 ± 0,05
biacutus	o	++	o	o	+	o	+	o	Gluc., lév., malt., lact., gal.	FA (10/14) F ±, AB (4/14)	1,03 ± 0,08
vescus	o	o	Légèrement fétide	+	o	o	+	o	Gluc., malt., mann., rham., dext., cellobiose.	?	?

TABLEAU 25. — *Caractères principaux de* Fusiformis fusiformis *selon divers auteurs.*

	Gram	Odeur	Gaz	Indole	H_2S	NO_3	Glucides	Type fermentaire
B. fusiforme Vincent, 1896 (185) et 1901 (186).	—	+						
B. fusiformis Veillon et Zuber, 1898 (184).	—	+	Peu ou o					
Varney, 1927 (183).		+						
Groupe II A et B : Spaulding et Rettger, 1937 (169).	—	o		o	+	o	Gluc., lév., sacch., malt. tréh., lact. ±	
F. plauti-vincenti Knorr, 1922 (87).	—	+		o	o			
F. plauti-vincenti Boë et Thjötta, 1944 (26).	—	o	o	+	+		Fermentation faible.	
L. buccalis Boë et Thjötta, 1944 (26).	+	o	o	o			Fermentation énergique.	
F. fusiformis Topley et Wilson, 1946 et 1955 (194).	—			o			Gluc., malt., mann., lact.	
F. plauti-vincenti Jackins et Barker, 1951 (77).	+	o	o	o	o	o	Malt +., lact. + ou o.	L pur
F. fusiforme Bergey, 1957 (18).	—	o	o	o	o	o	Gluc., fruct., sacch., malt., lact. ±	
F. fusiformis Prévot, 1957 (141).	—	+	Peu ou o	+	+	o	Gluc., malt., lact., mann. (lév., gal., arab., xyl. ±)	FABP/L
F. fusiforme Omata et Braunberg, 1960 (120).				o	o		Gluc., sacch., malt.	AL

TABLEAU 26. *Caractères principaux de* Fusiformis nucleatus *et de* Fusiformis polymorphus *selon divers auteurs.*

	Odeur	Gaz	Sérophilie	H_2S	NO_3	Indole	Glucides	Type fermentaire
F. nucleatum Knorr, 1922 (87).		o	Obligée	o		o		
Groupe IA, Spaulding et Rettger, 1937 (169).	+			+	+	+	Gluc. lév.	
F. nucleatum Jackins et Barker, 1951 (77).				+	+	+	Gluc., sacch. ±	AB/L
F. nucleatum Bergey, 1957 (18).	+	o	Obligée	?	+	?	Gluc., fruct., lact., gal., sacch. ± ?	
F. nucleatus Prévot, 1957 (141).	+	o	Obligée	+	+ ou o	+	Gluc., lév., sacch., lact., gal.	FAPB/L
F. nucleatum Omata et Braunberg, 1960 (120).				+		+	Gluc.	AB/L
F. polymorphum Knorr, 1922 (87).				o		o		
Groupe IA, Spaulding et Rettger, 1937 (169).	+			+	+	+	Gluc., lév.	
F. polymorphum Jackins et Barker, 1951 (77).				+	+	+	Gluc., sacch. ±.	
F. polymorphum Bergey, 1957 (18).	o	o	?	?	o	?	Gluc., sacch., fruct.	
F. polymorphus Prévot, 1957 (141).	o	o	o	o	o	Traces ou o	Gluc., lév., sacch.	FAB
F. polymorphum Omata et Braunberg, 1960 (120).				+		+		AB/L

a) *Fusiformis fusiformis.* — Les espèces *fusiformis* Vincent, 1896 et *fusiformis* Veillon et Zuber, 1898 ont été toutes deux décrites de façon incomplète. Vincent n'en avait pas réalisé la culture pure. Veillon et Zuber l'obtinrent pour la première fois. Prévot adopte la dénomination de *fusiformis* Vincent en raison de son antériorité historique, mais dans tous ses travaux (145) (190) précise, sans aucune ambiguïté possible, qu'il s'agit de l'espèce isolée et redécrite par Veillon et Zuber. Il serait donc plus correct de parler de *Fusiformis fusiformis* (Vincent) emend. Veillon et Zuber, Prévot. Or, si l'on se réfère à la description originale de Veillon et Zuber qui isolèrent cette espèce dans des cas d'appendicite, on constate qu'ils la décrivent comme une bactérie anaérobie Gram-négative, donnant en gélose profonde des colonies lenticulaires, troublant le bouillon rapidement avec formation d'un dépôt secondaire. Ces auteurs ajoutaient enfin : « Le bacille ne donne que peu de gaz incapable de fendre la gélose des tubes profonds. Les cultures sont fétides » (184).

On voit donc que *F. fusiformis* V. et Z. n'est en rien identique à *F. fusiforme* (V. et Z.) Bergey, 1957, espèce décrite comme inodore, ni à *Leptotrichia buccalis* (Robin) Böe et Thjotta, 1944, anaérobie ou microaérophile, Gram-positive en culture jeune et dont les cultures ne sont en aucun cas fétides. L'espèce de Veillon et Zuber est par contre identique à *F. fusiformis* (Vincent) emend. V. et Z., Prévot, anaérobie strict, Gram-négatif, de mêmes caractères culturaux (odeur fétide, bouillon troublé et dépôt secondaire, colonies lenticulaires). Un seul point mérite d'être précisé : Prévot décrit les cultures de *F. fusiformis* comme « légèrement gazogènes » ; or l'examen des souches de la Collection des anaérobies ainsi identifiées montre qu'elles donnent très peu ou pas de gaz en bouillon, et jamais de gaz en gélose profonde ou, exceptionnellement, à l'isolement, en présence de sérum, une ou deux bulles de gaz. Les caractères culturaux de *F. fusiformis* (Vincent) emend. Prévot, ceux des souches de cette espèce ici étudiées et ceux de l'espèce *fusiformis* Veillon et Zuber sont identiques : il s'agit d'une même espèce, différente de *Fusobacterium fusiforme* (V. et Z.) Bergey (1957).

Nous avons précisé le type fermentaire de *F. fusiformis* à l'aide de six souches de collection (F A B P L), et sa teneur (A + T)/(G + C) à l'aide de sept souches (2,07 ± 0,10). Ce dernier chiffre est tout à fait comparable à celui de Lee et coll. (2,17) obtenu avec une seule souche de cette espèce. Il constituera un critère supplémentaire pour différencier *F. fusiformis* des espèces voisines.

b) *Fusiformis nucleatus.* — Les caractères de *Fusobacterium nucleatum* (Knorr) varient selon l'auteur considéré (tableau 26). On voit que presque tous les auteurs sont d'accord en ce qui concerne sa sérophilie obligée, l'odeur fétide de ses cultures, son absence de pouvoir gazogène, son pouvoir

nitrato-réducteur (constant ou fréquent) et son activité glucidolytique faible. Au sujet de son type fermentaire, de sa production d'indole et d'H_2S, les opinions divergent.

Cette espèce est indologène (les réactions sont toutefois plus discrètes qu'avec *F. fusiformis*) ; son type fermentaire déterminé à l'aide de 9 souches de collection est F A B P L : par technique chromatographique, les différences antérieurement signalées (146) ne sont pas retrouvées. La teneur (A + T)/(G + C) précisée à l'aide de 9 souches est de 2,58 ± 0,03.

F. fusiformis et *F. nucleatus* sont deux espèces de type AT extrême, mais les valeurs assez éloignées de la teneur (A + T)/(G + C) (2,07 et 2,58) permettent de les différencier de façon absolue.

c) *Fusiformis hæmolyticus.* — Nous avons déjà rappelé les principaux caractères de cette espèce et les raisons pour lesquelles Beerens et Gaumont (8) l'ont incluse dans le genre *Fusiformis*. Son type fermentaire est acéto-butyrique-lactique et sa teneur (A + T)/(G + C) de 2,06 (≠ 38 de Beerens (*)), ce qui confirme sa parenté avec *F. fusiformis*, déjà notée par Beerens et Gaumont.

d) *Fusiformis polymorphus.* — L'examen du tableau 26 et les faits rappelés ci-dessus montrent que l'accord n'est pas davantage réalisé au sujet de cette espèce, que Baird-Parker assimile à *F. fusiformis* Prévot et Taffanel (1), et Omata et Braunberg à *F. nucleatus*. Jackins et Barker (77) envisagent également cette dernière éventualité et décrivent ces deux espèces avec des caractères à peu près identiques (**). Nous avons rappelé les arguments permettant d'envisager que *F. fusiforme* (V. et Z.) Bergey (1957) est synonyme de *F. polymorphus* (Knorr) Prévot 1957 et non de *F. fusiformis* Prévot 1957.

A l'aide de 4 souches de collection de *F. polymorphus* (Knorr) Prévot, nous avons précisé leur type fermentaire (F A B), et leur teneur (A + T)/(G + C) : 1,13 ± 0,05. Cette dernière valeur permet de réfuter de façon définitive l'opinion d'Omata et Braunberg et celle de Baird-Parker. Ceci permet, par contre, de douter de la position systématique actuelle de *F. polymorphus*.

Il nous semble possible d'admettre pour les espèces *fusiformis* et *polymorphus* les synonymes suivants :

— *Fusiformis fusiformis* Veillon et Zuber 1898 = *Fusiformis fusiformis* (Vincent) emend. V. et Z., Prévot 1957.

(*) H. Beerens, Institut Pasteur de Lille.

(**) Le groupe IA de Spaulding et Rettger (168) englobe également les espèces *polymorphus* et *nucleatus*.

TABLEAU 27. — *Diplobacilles immobiles à extrémités effilées.*

N° de souche	Pouvoir gazogène en G. P.	Coagulation du lait	Odeur	Indole	H_2S	A + T / G + C	Acides volatils	Identification
1734 D	± ou o	+	Fétide	+	+	2,14	FABP	*Fusiformis fusiformis.*
110 III	+	o	o	o	+	2,23	FA	*Ristella clostridiiformis.*
864	+	o	o	+	+	2,23		*Ristella clostridiiformis.*
132 II	+	o	o	o	o	1,45	FA	Ex. *R. clostridiiformis. F. biacutus* var. atypique.
85 II	+	o	o	o	+	1,01	FA	Ex. *R. clostridiiformis. F. biacutus* var. lait o.
1364 C	+	o	o	o	+	1,14	FA	*Fusiformis biacutus* var. lait o.
1611 B	+	o	o		+	1,17	FA	*Id.*
LSU	+	o	o			1,09	AB	*Id.*

S6	+	o	o			1,03	AB	*Id.*
S5	+	o	o			1,02	AB	*Id.*
139 I	+	+ (8e jour)	o	o	+	1,24		*Fusiformis biacutus.*
201 III	+	+ (8e jour)	o	o	+	1,13		*Id.*
2071	+	+	o			1,04	FAB	*Id.*
1648	+	+	o	o	+	0,98	FA	*Id.*
118 III	+	+ (3e jour)	o	o	+	0,95	FA	*Id.*
171 I	+	+ (30e jour)	o	o	+	0,88	FA	*Id.*
T 90	+	+ (3e jour)	o	o	+	0,87	FA	*Id.*
B 58	+	+ (3e jour)	o	o	+	0,82	FA	*Id.*

— *Fusobacterium plauti-vincenti* (Knorr) Bergey 1948 = *Fusobacterium fusiforme* (V. et Z.) Bergey 1957 = *Fusiformis polymorphus* (Knorr) Prévot 1957 ; différent de *F. fusiformis* V. et Z., 1898.

L'origine de cette confusion est une description incomplète par Knorr (87) des espèces *F. plauti-vincenti* et *F. polymorphum*, vraisemblablement identiques, et une synonymie erronée des espèces *F. fusiformis* (V. et Z.) et *F. plauti-vincenti* (Knorr).

Si l'on utilise le système de classification de Prévot, on arrive aisément à individualiser ces espèces ; ceci est confirmé par une teneur (A + T)/(G + C) différente pour chaque espèce.

e) *Fusiformis biacutus.* — Le diagnostic de cette espèce, décrite en 1926 par Weinberg et Prévot, est aisé (tableau 24). Nous en avons étudié 14 souches : la majorité d'entre elles ont été ainsi déterminées par Prévot ; certaines l'ont été par nous-mêmes : # 85 II (ex. *Ristella clostridiiformis*) (voir paragraphe précédent) ; # 1611 B (ex. *Fusocillus girans*) et LSU, S_5, S_6 (ex. *Fusocillus pedipedis* (Prévot) ou *Bacteroides symbiosus* (Shaffer)) (voir paragraphe 1 de ce chapitre) ; # B 58 et T 90 (ex. *Fusobacterium* sp. Bryant, Bouma et Robinson, 1958 (34)). Nous avons par contre exclu de cette espèce la souche 1734 D qui y avait été rattachée par erreur (fétide, agazogène, indologène, type fermentaire F A B P et teneur (A + T)/(G + C) = 2,14) et que nous avons identifiée comme étant *Fusiformis fusiformis.*

Deux points ont été précisés pour *F. biacutus* :

1° *Type fermentaire :* par la méthode de Duclaux, Prévot a constaté que cette espèce a un type fermentaire propionique-acétique (131) ; cependant certaines souches ne semblaient former que de l'acide acétique (Prévot, communication personnelle). Par chromatographie sur papier, nous avons vérifié l'existence de ces deux groupes (tableau 27) : quatre souches produisent les acides acétique et butyrique et, de plus, de façon inconstante, de l'acide formique ; dix ne produisent que les acides formique et acétique. Ces deux types fermentaires correspondent très probablement aux types I et II de Beerens et coll. (1959) (11) (type I : thréonine non dégradée, production d'acides formique et acétique ; type II : ferment formique, acétique, butyrique ; la thréonine est dégradée en acide propionique, mais celui-ci, formé en trop faible quantité, ne s'accumule pas dans le bouillon VF).

2° *Teneur (A + T)/(G + C)* (*) : déterminée pour 13 souches, elle est de 1,03 ± 0,08. L'écart moyen est un peu plus élevé que pour l'ensemble des autres espèces : ceci peut être lié à leurs types fermentaires différents (les souches produisant les acides formique et acétique seuls sont fréquem-

(*) Cf. tableaux 8, 9, 13 et 21.

ment parmi celles de teneur (A + T)/(G + C) plus faible ; mais aucune division n'est possible sur la base de ces deux caractères qui ne sont pas toujours liés). De plus, nous avons inclus dans cette espèce les souches B 58 et T 90 de Bryant (**) et coll. qui en constituent incontestablement une variété (variété produisant de l'acide lactique et fermentant rhamnose, xylose et glycérol) : ces souches, isolées par Bryant et coll. du rumen des bovidés, avaient été rattachées par eux au g. *Fusobacterium*. Il leur semblait s'agir d'une espèce différente des espèces connues en raison de leur pouvoir gazogène intense avec dégagement d'H_2 ; elles sont semblables au groupe II de Spaulding et Rettger par la production d'acide lactique et la non-production d'acide butyrique, mais en diffèrent par la production d'NH_3, la fermentation de rhamnose, xylose et glycérol. Selon ces mêmes auteurs, elles diffèrent de *F. biacutus* par la production d'acide lactique et la non-production d'acide propionique. On voit que ce dernier argument n'est pas valable, puisque par chromatographie, on constate que *F. biacutus* ne produit pas d'acide propionique. L'inclusion des souches de Bryant dans l'espèce *F. biacutus*, que nous proposons ici, n'est cependant pas définitive. Seules des techniques plus précises (transformation ou hybridation d'ADN) nous permettront de savoir s'il s'agit d'une variété de *F. biacutus* ou d'une espèce différente.

F. biacutus est caractérisé par la morphologie en diplobacilles de ses éléments, un pouvoir gazogène intense, la non-fétidité de ses cultures, l'absence de formation d'indole et d'H_2S, la coagulation fréquente du lait, la production d'acides formique et acétique et (de façon inconstante) d'acide butyrique, enfin par une teneur (A + T)/(G + C) de 1,03 $\pm$ 0,08. Quant à sa position systématique au sein du g. *Fusiformis*, elle peut être mise en doute en raison d'une teneur (A + T)/(G + C) voisine de l'unité, caractère qui la rapproche de *F. polymorphus* et l'éloigne des espèces *fusiformis*, *nucleatus* et *hæmolyticus*.

Conclusions

Le diagnostic différentiel des espèces du g. *Fusiformis* est aisé en utilisant la clé dichotomique de Prévot résumée dans le tableau 24. L'individualité de ces espèces est confirmée par leur teneur variable (A + T)/(G + C). Ce dernier critère permet par contre de douter des affinités de ces espèces et d'envisager l'existence de deux groupes, au moins :

— groupe *fusiformis-hæmolyticus-nucleatus* : (A + T)/(G + C) $\geqslant$ 2,0 ;
— groupe *biacutus-polymorphus* : (A + T)/(G + C) $\neq$ 1.

(**) M. P. Bryant. Dairy Cattle Research Branch. Agricultural Research Service, Beltsville Maryland, U. S. A.

IV. — Genres Ristella *et* Fusiformis.

Nous envisagerons ici les relations entre *Ristella clostridiiformis* et *Fusiformis biacutus* d'une part, *Ristella melaninogenica* et *Fusiformis nigrescens*, d'autre part.

a) *Ristella clostridiiformis* ET *Fusiformis biacutus*. — L'espèce *clostridiiformis* Burri et Ankersmit (1902), emend. Ankersmit (1906) d'abord rattachée par ce dernier auteur au g. *Bacterium* a été incluse par Prévot (130) dans le g. *Ristella* et par Breed et al. (18) dans le g. *Bacteroides*. Mais il était aussi logique d'envisager son rattachement à l'espèce *F. biacutus*, dont elle pourrait constituer une variété ne coagulant pas le lait. Les teneurs (A + T)/(G + C) très différentes de ces 2 espèces — *R. clostridiiformis* (2,20 ± 0,01), *F. biacutus* (1,03 ± 0,08) — montrent qu'il s'agit bien de deux espèces différentes, mais dont le diagnostic reste difficile (surtout entre *R. clostridiiformis* et *F. biacutus* var. lait non coagulé). La souche 132 II dont la teneur (A + T)/(G + C) est de 1,45, pourrait être considérée comme une variété de *F. biacutus*.

Alors que des critères morphologiques, culturaux et biochimiques voisins permettaient d'envisager l'identité des espèces *clostridiiformis* et *biacutus*, une teneur très différente en bases de leur ADN montre qu'il s'agit d'espèces autonomes.

b) *Ristella melaninogenica* ET *Fusiformis nigrescens*. — Quoique la teneur (A + T)/(G + C) n'ait pas été déterminée chez ces espèces, quelques remarques sont nécessaires. Oliver et Wherry (1921) (117) décrivent *Bacterium melaninogenicum*, bactérie anaérobie, Gram-négative, à coloration bipolaire, hémophile obligée ; ils considèrent que son pigment appartient au groupe des mélanines. Les caractères et besoins nutritionnels de cette espèce sont précisés par Burdon (35), Lev (101), (102), Gibbons et Mac Donald (60). Schwabacher et coll. (1947) (158) établissent que le pigment n'est pas une mélanine mais qu'il s'agit d'un dérivé de l'hémoglobine (hématine unie dans la cellule à une protéine bactérienne pour former une parahématine). Ils proposent pour cette espèce la dénomination de *Fusiformis nigrescens*. Si ce dernier terme spécifique est plus judicieux que celui de *melaninogenicum* on peut, par contre, avoir des doutes quant au rattachement de cette espèce au genre *Fusiformis* dont elle ne possède aucun caractère. L'espèce *melaninogenicum* est incluse, actuellement, selon les auteurs, dans les genres suivants : *Bacteroides* (Bergey, 1957), *Fusiformis* (Topley et Wilson, 1955) et *Ristella* (Prévot, 1957). L'absence de polymorphisme et d'extrémités effilées ne permet pas de l'inclure dans les genres *Sphærophorus* et *Fusiformis*. Elle paraît devoir être maintenue provisoirement dans le genre *Ristella*.

V. — *Genre* Sphærophorus (*).

Prévot (130) a proposé le genre *Sphærophorus* pour grouper les bactéries anaérobies Gram-négatives, asporulées, immobiles, caractérisées par leur polymorphisme (formes courtes cocco-bacillaires, formes filamenteuses, sphéroïdes libres ou sessiles, généralement de grande taille), avec comme espèces-types *Sph. necrophorus*, *Sph. funduliformis*. Ce genre comprend actuellement (149) 22 espèces réparties en cinq sous-groupes en fonction des caractères suivants : pouvoir gazogène, sérophilie et pouvoir hémolytique. La nomenclature de ce genre, ses limites avec les genres *Ristella*, *Fusiformis*, *Leptotrichia*, sa position taxinomique (Eubactériales ou Actinomycétales ?) sont particulièrement discutées. Ceci n'a pas un intérêt seulement spéculatif mais peut être résumé ainsi : doit-on avec Prévot différencier le genre *Sphærophorus* (« polymorphe ») (**) du genre *Ristella* (« non polymorphe »), ou doit-on inclure l'ensemble dans un même genre *Bacteroïdes* Castellani et Chalmers, 1919 *emend.* Bergey, 1939 ? Quelle valeur taxinomique doit-on attribuer à des formations telles que les sphéroïdes ? Ce problème ne pouvait être résolu qu'en comparant le critère « polymorphisme » à un critère de valeur plus absolue, teneur (A + T)/(G + C) en l'occurrence, pour rechercher si une relation existe entre eux, infirmant ou confirmant la position de Prévot. La teneur (A + T)/(G + C) a été déterminée pour 43 souches de Collection du g. *Sphærophorus* appartenant à 12 espèces différentes. Le type fermentaire de la majorité d'entre elles a été établi (tableau 28). Les teneurs (A + T)/(G + C) obtenues sont les suivantes :

— *Sph. necrophorus* (# 696 D) : 2,00 ;
— *Sph. funduliformis* (11 souches) : 2,00 ± 0,05 ;
— *Sph. pseudonecrophorus* (4 souches) : 2,00 ± 0,01 ;
— *Sph. gulosus* (2 souches) : 1,35 ± 0,05 ;
— *Sph. varius* cf. p. 123.
— *Sph. siccus* (1 souche) : 2,20 ± 0,06 (voir § 8) ;
— *Sph. ridiculosus* (9 souches) : 1,42 ± 0,04 ;
— *Sph. freundi* (2 souches) : 1,30 ± 0,05 ;
— *Sph. pyogenes* (# 1748 B) : 1,93 ± 0,02 ;
— *Sph. influenzæformis* (2 souches) : 2,24 ± 0,01 (voir § 1) ;
— *Sph. abscedens* (3 souches) : 1,20 ± 0,06 ;
— *Sph. glycolyticus* (3 souches) : 1,31 ± 0,03.

(*) Cf. tableau 28

(**) Nous désignons la présence de sphéroïdes, de formes filamenteuses et de ramifications par le terme « polymorphe ».

TABLEAU 28. — *Diagnostic des espèces les plus fréquentes du g.* Sphærophorus.

Espèce	Gaz	Sérophilie obligée	Hémolysine	Odeur	Gélatine	Lait	H_2S	Indole	NO_3	Glucides	Acides volatils	$\frac{A+T}{G+C}$
necrophorus (*)	+	o	+	++	o	+	+ ou o	+	o	Gluc., lév., malt., lact., sacch., gal., arab., mann., xyl., sorb.	APB	2,00
funduliformis (**)	+	o	+	++	o	+	+ ou o	+	o	*Id.*	AB APB	2,00 ± 0,05
pseudonecrophorus	+	o	o	++	o	o	+	+	o	Gluc., lév., sacch., malt., sal.	APB	2,00 ± 0,01
gulosus	+	o	o	+	+	+	+	+	o	Gluc., lév., gal., malt., lact., sacch., xyl., arab., inul., dext., am., glyc.	AP	1,35 ± 0,05
varius	+	o	o	++	o	o	+	+	o	Gluc., lév., gal., sacch., lact., mann. sorb., glyc.	FAPB	

siccus	+	o	o	o	o	o	+	o	o	Lev.	FABV	2,20 ± 0,06
ridiculosus	+	o	o	+	o	+	+	o	o	Gluc., lév., sacch., lact., malt., gal.	FAPB	1,42 ± 0,04
freundi	+	+ au départ	o	+	o	+	+	+	o	Gluc., malt., sacch., mann.		1,30 ± 0,05
pyogenes	+	+	o	±	o	+	o	Traces	o	Gluc., lév., malt., gal., lact., sacch., xyl., am.	FAB	1,93 ± 0,02
influenzæformis	o	o	o	o	o	+ Lentement	+	Traces		Gluc., mann.	FAB, P ±	2,24 ± 0,01
abscedens	o	+	o	o	o	o	+	+	o	Gluc. ± et gal. ±.	A, B ±	1,20 ± 0,06
glycolyticus	o	+	o	±	+ Lentement	+	+		o	Gluc., lév., malt., sal., sacch., lact., glyc., am.	AP	1,31 ± 0,03

(*) Hémagglutinine + ; bouillon VF troublé.
(**) Hémagglutinine o ; bouillon VF non troublé.

Signalons, de plus, les valeurs (A + T)/(G + C) obtenues avec les souches des groupes II et III des termites et des blattes et que nous envisageons d'inclure dans le g. *Sphærophorus* pour des raisons déjà précisées :

— groupe II (18 souches) : 2,05 ± 0,10 ;
— groupe III (13 souches) : 2,38 ± 0,06.

Sur un total de 70 souches incluses dans 12 espèces différentes et deux « groupes » provisoires que nous savons voisins des espèces *Sph. siccus* et *Sph. varius*, il est possible de différencier trois groupes :

1° 51 souches (soit 72,8 %) appartenant à 7 espèces différentes et deux « groupes » sont de type AT extrême ((A + T)/(G + C) > 1,90) (espèces *necrophorus*, *funduliformis*, *pseudonecrophorus*, *varius*, *siccus*, *pyogenes*, *influenzæformis*, groupes II et III). Ces souches donnent de façon constante ou très fréquente des sphéroïdes nombreux, de grande taille, apparaissant dans des cultures en phase logarithmique de croissance.

2° 10 souches (soit 14,3 %) appartenant à 4 espèces *(gulosus, freundi, abscedens, glycolyticus)* ont un rapport (A + T)/(G + C) peu élevé, compris entre 1,20 et 1,35. Elles ne donnent jamais de sphéroïdes de grande taille et d'apparition précoce ; ceux-ci n'apparaissent que dans des cultures en géloses de plusieurs jours et leur diamètre n'excède pas 2 à 3 μ ; on observe aussi quelques formes filamenteuses et ébauches de ramifications, mais elles sont toujours peu nombreuses et peu typiques.

3° *Sph. ridiculosus* se caractérise par une teneur (A + T)/(G + C) relativement faible, par rapport au premier groupe cité, mais toutefois un peu plus élevée que celle du groupe *gulosus*, *freundi*. *Sph. ridiculosus* se caractérise, de plus, par une surabondance de sphéroïdes de grande taille.

Ceci permet de dire que toutes les souches et espèces du g. *Sphærophorus* Prévot ayant une morphologie en général typique ont une teneur (A + T)/(G + C) toujours supérieure à 1,40 (et même à 1,90 sauf dans un cas *(Sph. ridiculosus)*). En ce qui concerne celles dont la teneur (A + T)/(G + C) est inférieure à 1,40, il est permis de douter de la validité de leur inclusion dans le genre *Sphærophorus*. Rappelons que, à l'inverse, dans le genre *Ristella* Prévot, toutes les espèces ont une teneur (A + T)/(G + C) inférieure à 1,40, sauf deux espèces que nous avons de bonnes raisons de considérer comme des *Sphærophorus*. Une teneur (A + T)/(G + C) supérieure à 1,40, et le plus souvent à 1,90, pourrait constituer un caractère du genre *Sphærophorus*. La division des espèces du genre *Sphærophorus* Prévot en deux groupes, selon leur teneur (A + T)/(G + C) et leur polymorphisme, rejoint l'observation de Prévot (145) concernant la sensibilité variable à la pénicilline de *Sph. funduliformis-necrophorus* et de *Sph. freundi*, cette dernière espèce étant seule résistante à la pénicilline et donnant des infections subaiguës ou chroniques. Notons que *Sphærophorus glycolyticus* et *gulosus* sont généralement résistants à la

pénicilline. De plus, ces faits sont à rapprocher des observations de Lavergne et al. (1956) (93) et de Beerens et al. (4) (13) selon lesquelles les *Ristella* sont résistantes à la pénicilline. La résistance à la pénicilline du groupe *Sphærophorus freundi, gulosus, glycolyticus* constitue un argument supplémentaire en faveur de son rattachement au g. *Ristella*.

Conclusions.

Une teneur (A + T)/(G + C) élevée, même en l'absence de sphéroïdes, semble devoir permettre pour une souche ou espèce anaérobie, Gram-négative et asporulée son inclusion dans le genre *Sphærophorus*. La limite inférieure possible de ce coefficient pourrait être 1,40 *(Sph. ridiculosus)*, ou même 1,90, *Sph. ridiculosus* constituant une exception.

Douze des espèces incluses par Prévot dans le g. *Sphærophorus* et seules étudiées ici peuvent être scindées en deux groupes :

1° *groupe « polymorphe », en général pénicillino-sensible et de teneur (A + T)/(G + C) supérieure à 1,90 (sauf une exception) :* espèces *necrophorus, funduliformis, pseudonecrophorus, varius, siccus, pyogenes, influenzæformis, ridiculosus ;*

2° *groupe « non polymorphe », en général pénicillino-résistant, et de teneur (A + T)/(G + C) toujours inférieure à 1,40 :* espèces *gulosus, freundi, abscedens, glycolyticus.*

Notons que les espèces *necrophorus, funduliformis*, mais aussi *pseudonecrophorus, pyogenes, varius* ont des rapports (A + T)/(G + C) voisins, ce qui souligne leur parenté ; ces espèces étant individualisées par d'autres caractères biochimiques et culturaux, le critère précédant ne peut pas être utilisé comme argument en faveur de leur identité. Si dans le paragraphe 1 nous avons considéré une même teneur (A + T)/(G + C) comme un argument en faveur de l'identité de *Zuberella clostridiiformis* et *Fusocillus girans*, c'est parce que tous les autres caractères le permettaient. Ici, une teneur identique (A + T)/(G + C) pour *Sph. necrophorus* et *Sph. funduliformis* souligne seulement leur parenté bien connue ; il n'en reste pas moins que la première espèce citée possède seule une hémagglutinine (9) et une exotoxine, pousse en troublant le bouillon et est d'origine animale.

Les rapports entre les espèces *varius* et *siccus* seront envisagés plus loin.

VI. — *Genres* Ristella, Fusiformis *et* Sphærophorus.

Les espèces les plus typiques du genre *Fusiformis (fusiformis, nucleatus, hæmolyticus)* et du genre *Sphærophorus (funduliformis, necrophorus*, etc.) sont de type AT extrême. Celles ayant une teneur (A + T)/(G + C) comprise entre 1,00 et 1,40 ne possèdent pas de sphéroïdes de grande taille, sont peu polymorphes. Remarquons que malgré son nom, *Fusiformis*

polymorphus n'est pas spécialement polymorphe : il ne possède pas de sphéroïdes ; il n'est pas plus filamenteux que certaines espèces de *Ristella* du groupe « filamenteux » (141) ; *Fusiformis biacutus* ne possède pas de sphéroïdes de grande taille.

La plupart des espèces du g. *Ristella* Prévot ont une teneur (A + T)/(G + C) comprise entre 1,00 et 1,40.

Il est donc possible de douter : 1° de la parenté des espèces de ces groupes, dites voisines, lorsque leurs teneurs (A + T)/(G + C) sont très différentes ; 2° de l'absence de parenté des espèces de mêmes teneurs (A + T)/(G + C) lorsqu'elles ont par ailleurs de très nombreux caractères voisins : c'est, par exemple, le cas de *Fusiformis fusiformis* et *Sphærophorus funduliformis*. De même, *Fusiformis hæmolyticus* nous apparaît à la fois comme très voisin de *F. fusiformis* et de *Sph. funduliformis-necrophorus ;* Beerens et Gaumont en décrivant *F. hæmolyticus* ont hésité quant à sa position taxinomique : sa morphologie et un antigène commun avec une souche de *F. fusiformis* la rapprochaient du g. *Fusiformis*, son pouvoir hémolytique, du g. *Sphærophorus*. Nous étudierons le critère « extrémités effilées » pour voir s'il est logique de lui faire jouer un rôle si important en taxinomie.

De même il est permis de penser que des affinités existent entre les espèces suivantes dont nous rappelons les critères différentiels :

1° *Sph. gulosus* ((A + T)/(G + C) = 1,35) : gélatine +, indole +, fermente arabinose, dextrine et glycérol, type fermentaire AP, et *R. distasonis* ((A+T)/(G+C) = 1,36) : gélatine ±, indole 0, type fermentaire F A B.

2° *Sph. abscedens* ((A + T)/(G + C) = 1,20) : sérophile obligé, gélatine 0, indole +, non glucidolytique, type fermentaire A B, et *R. tumida* ((A + T)/(G + C) = 1,21) : non sérophile obligé, gélatine +, indole 0, glucidolytique, type fermentaire F A P B.

Enfin existe-t-il une affinité entre *Sph. ridiculosus* — (A + T)/(G + C) = 1,42, polymorphe, indole 0, saccharose +, type fermentaire F A P B — et *R. insolita* — (A+T)/(G+C) = 1,40, non polymorphe, indole +, mannose +, glycérol +, type fermentaire A P B ? *Sph. ridiculosus* pourrait être considéré comme une forme intermédiaire entre les deux groupes envisagés.

De toute façon, la majorité des espèces considérées ont une teneur (A + T)/(G + C) supérieure à 1,90 si elles sont « polymorphes », inférieure à 1,40 si elles ne le sont pas. Une nouvelle classification tenant compte de ce fait pourrait être envisagée.

VII. — Le genre Leptotrichia *Trevisan, 1879.*

Généralement défini comme un genre bactérien groupant des espèces Gram-positives en culture jeune, il ne devrait pas entrer dans le cadre de cette étude. Nous sommes cependant amenés à y faire allusion en raison

de ses relations mal précisées avec le genre *Fusiformis*. Pour une étude complète de ce genre, consulter Thjötta, Hartmann et Böe (1939) (178), Comité de Nomenclature Bactérienne 1954 (82), Gilmour, Howell et Bibby (1961) (61), Gilmour (1961) (62), Gilmour et Beck (1961) (63) et la bibliographie citée par ces auteurs.

Thjötta, Hartmann et Böe (1939) (178) définissent *Leptotrichia buccalis* comme Gram-positive en culture jeune, microaérophile ou anaérobie facultative ; ils nient l'existence d'espèces anaérobies strictes ou fétides dans ce genre. Prévot, alléguant que ce genre n'a pas été défini par son caractère aérobie y inclut des espèces anaérobies Gram-négatives présentant des segments Gram-positifs mais qui ne sont en rien identifiables à *Leptotrichia buccalis* (141). Böe et Thjötta (1944) (26) différencient *Leptotrichia buccalis*, Gram-positive en culture jeune, non indologène, glucidolytique, et *Fusobacterium plauti-vincenti*, Gram-négatif, indologène, produisant H_2S et faiblement glucidolytique ; *L. buccalis* est décrite cette fois comme anaérobie. Davis et Baird-Parker (1959) (48) décrivent *L. buccalis* comme une bactérie fusiforme anaérobie préférentielle (*).

Il résulte de ces quelques exemples que ces divers auteurs appellent *L. buccalis* un organisme filamenteux ou fusiforme, aérobie facultatif ou anaérobie strict, Gram-positif en culture « jeune » ou Gram-négatif avec des « noyaux » Gram-positifs (et dans cette dernière éventualité comment les différencier des fusiformes Gram-négatifs présentant parfois des « noyaux » Gram-positifs ?). Pour tenter de trouver une solution, Gilmour, Howell et Bibby (61) proposent de maintenir dans le g. *Leptotrichia* les espèces anaérobies fusiformes et de regrouper les espèces aérobies Gram-positives qui y sont incluses dans un genre nouveau *Bacterionema*. Ceci ne résout pas le problème de la délimitation des g. *Leptotrichia* et *Fusiformis*.

En ce qui concerne les seules bactéries anaérobies strictes, elles semblent ne pouvoir être incluses dans le g. *Leptotrichia*, que si elles sont Gram-positives en culture « jeune », ce qui exclut toutes les espèces du g. *Fusiformis* Prévot, et peut-être *Lept. tenuis* (Lewkowicz) et *Lept. hæmolytica* (Bezjak) décrites comme Gram-négatives, et même *Lept. innominata*, Gram-négative avec des segments Gram-positifs.

Ces espèces du g. *Leptotrichia* pourraient être incluses dans le g. *Fusiformis* ou *Sphærophorus* dont elles possèdent la même teneur $(A + T)/(G + C)$. Nous avons déterminé cette dernière valeur sur deux souches de

(*) Le terme d'anaérobie préférentiel, souvent employé par les Anglo-Saxons, est particulièrement ambigu et ne fait qu'augmenter la confusion régnant dans ce groupe, car il n'indique pas si les souches ainsi décrites sont cultivables ou non à la surface d'une gélose inclinée, ce qui reste le critère ultime de l'aérobiose ou de l'anaérobiose, l'oxygène étant — bien entendu — à sa pression atmosphérique.

Collection, Gram-négatives et présentant des « noyaux » Gram-positifs : *L. vaginalis* (# 2457 B) (1,78) et *L. innominata* (# 2353 A) (2,06) : ces souches ou espèces sont remarquables, non par une coloration de Gram positive, mais par l'abondance des formes filamenteuses et la fréquence des formes dont la largeur dépasse 1 μ ; mais ceci ne pourrait-il pas être interprété comme une absence de segmentation des corps microbiens dans les deux dimensions ? Seules les souches 2288 et 1956 A, anaérobies strictes ne peuvent pas être incluses dans les g. *Fusiformis* ou *Sphærophorus* : elles ont une morphologie fusiforme avec tendance filamenteuse, mais sont Gram-positives. Il pourrait s'agir de véritables *Leptotrichia* anaérobies (teneur (A + T)/(G + C) de la souche 1956 A : 2,50) (*).

On peut, à l'opposé, se demander si certaines espèces rattachées par Prévot au g. *Catenabacterium* ne sont pas incluses par d'autres auteurs dans le g. *Leptotrichia* ou *Bacterionema*. Il s'agit de bâtonnets à tendance filamenteuse (formation de très longues chaînes plus ou moins enroulées), non ramifiés, Gram-positifs, mais se décolorant facilement lorsque les cultures ont plus de 24 à 48 heures. Une étude comparée des diverses souches étrangères et françaises incluses dans les genres *Leptotrichia*, *Bacterionema* et *Catenabacterium* permettra seule de résoudre ce problème.

VIII. — Les bactéries Gram-négatives des termites et des blattes (Groupes II et III).

a) Diagnostic de classe. — L'existence de formes filamenteuses, de ramifications et de formes renflées libres ou sessiles permet d'inclure ces bactéries dans la classe des *Actinomycetales*, l'ordre des *Actinobacteriales* et la famille des *Sphærophoraceæ*, puisqu'il s'agit de bactéries Gram-négatives (141).

b) Diagnostic de genre. — Nous avons montré antérieurement que les bactéries des groupes II et III se rapprochaient du g. *Sphærophorus* (espèces *siccus* et *varius*). Notons cependant que la morphologie filamenteuse avec zones chromaffines et extrémités effilées ou non du groupe II nous avait fait envisager de rattacher ce dernier aux genres *Fusiformis* ou *Leptotrichia* : c'est surtout l'analogie de leurs caractères avec *Sph. siccus* qui nous a amenés à l'inclure dans le genre *Sphærophorus*. En ce qui concerne le groupe III, alors que la souche Te. 53 a une morphologie typique de *Sphærophorus*, les souches Bl_1, Bl_3, etc. étaient beaucoup plus difficiles à classer à l'isolement ; c'est l'identité de leurs caractères biochimiques avec la souche Te. 53 qui nous a permis d'emblée de les inclure dans le g. *Sphærophorus*. La morphologie extrêmement variable de ces deux groupes, liée

(*) Cf. tableau 18.

peut-être à leurs conditions de vie antérieures, nous donne l'impression qu'ils sont très voisins des genres *Fusiformis* et *Sphærophorus*. Une teneur (A + T)/(G + C) voisine nous le confirme. Le genre *Sphærophorus* étant celui dont la définition répond le plus parfaitement aux caractères des souches des groupes II et III, et ceux-ci étant voisins des espèces *siccus* et *varius*, elles-mêmes incluses par Prévot dans le g. *Sphærophorus*, c'est à ce dernier genre que nous rattachons les souches des groupes II et III.

c) Diagnostic d'espèce. — Comparaison avec quelques souches de Collection (*).

Les principaux caractères des espèces *siccus* et *varius* (Eggerth et Gagnon 1933 (58)) sont rappelés dans le tableau 28 ; il s'agit de deux espèces très voisines et Prévot rend compte de ce fait en les rangeant côte à côte dans sa classification (141) : *Sphærophorus varius* trouble le bouillon, est fétide, indologène, glucidolytique ; *Sphærophorus siccus* ne trouble pas le bouillon, n'est pas fétide, n'est pas indologène, ne fermente que le lévulose.

Deux souches de collection 1802 et 1610, identifiées respectivement aux espèces *siccus* et *varius* ont les caractères reportés dans le tableau 7. La souche 1802 est très voisine de *Sph. siccus*, mais elle est fétide, trouble secondairement le bouillon et fermente le glucose en plus du lévulose. La souche 1610, primitivement identifiée *Sph. varius* est bien fétide et indologène, mais elle ne trouble pas le bouillon et ne fermente que le lévulose ; ces deux derniers caractères la rapprochent de *Sph. siccus*.

Les bactéries du groupe II, comme *Sph. siccus*, ne troublent pas le bouillon (tout au moins 15 sur 24 d'entre elles), ne sont pas fétides, ne sont pas indologènes ; mais leur pouvoir glucidolytique intense les éloigne de cette espèce...

Les souches de collection 1669 B, 2333, 700 et 2587 que nous avons rattachées à *Sph. varius* (§ 1) troublent le bouillon VF et sont fétides ; l'une d'elles est indologène ; mais elles ne fermentent que glucose et lévulose alors que *Sph. varius* est décrit comme très glucidolytique...

Les bactéries du groupe III ont les mêmes caractères culturaux que *Sph. varius* Eggerth et Gagnon, mais elles sont peu ou pas indologènes. Enfin toutes les bactéries de ce groupe sont sulfito-réductrices, caractère retrouvé chez les souches 2333, 1669 B, 700 et 2587 alors que les souches 1610 et 1802 ne sont pas sulfito-réductrices et que ce caractère n'a pas été décrit pour les espèces *siccus* et *varius*.

Nous proposons d'inclure les souches 1802 et 1610 dans l'espèce *siccus*, la souche 1610 en constituant une variété fétide et indologène. Les souches du groupe II peuvent être rattachées à *Sph. siccus* dont elles constitueront une variété glucidolytique, ne produisant pas d'acides butyrique et valé-

(*) Cf. tableaux 7, 19 et 20.

rianique mais seulement des acides acétique et formique (elles ne sont jamais sulfito-réductrices, pas plus d'ailleurs que les souches 1610 et 1802). En raison de ces quelques caractères particuliers et de l'écologie très spéciale des bactéries du groupe II, nous proposons pour elles la dénomination de *Sph. siccus* var. *termitidis* var. nov. Leur teneur (A + T)/(G + C) voisine de 2,2 permet par ailleurs leur inclusion dans cette espèce.

Les souches du groupe III ont de nombreux caractères communs (trouble homogène du bouillon, odeur fétide, pouvoir sulfito-réducteur, pouvoir uricolytique, fermentation énergique du glucose et du lévulose (*), action faible ou nulle sur les autres sucres, type fermentaire F A P B L S, etc.). Il existe donc deux possibilités :

1° considérer ces souches comme typiques de l'espèce *varius*, dont nous aurions ainsi mis en évidence le pouvoir sulfito-réducteur ;

2° réserver le terme de *varius* à d'éventuelles souches non sulfito-réductrices, et grouper toutes les souches sulfito-réductrices dans une variété nouvelle : *Sph. varius* var. *sulfitoreductans* var. nov. ; la teneur (A + T)/(G + C) de cette variété est de 2,38 ± 0,06. Cette deuxième solution est préférable, car elle évite de modifier la définition de l'espèce *varius* et de lui attribuer le caractère sulfito-réducteur que possèdent peut-être seules certaines de ses souches. Aucune des souches ici étudiées ne possède tous les caractères de l'espèce *Sph. varius* Eggerth et Gagnon.

L'examen des tableaux 7 et 28 montre d'ailleurs qu'aucune des souches ne correspond tout à fait aux espèces-types *siccus* et *varius*. Ceci permet de se demander si les « espèces » initialement décrites ne correspondent pas aux types extrêmes de deux syngaméons voisins. Au sein des deux groupes voisins, caractères culturaux, pouvoir glucidolytique, pouvoir indologène, teneur en bases de l'ADN sont sujets à de petites variations. Il pourrait être possible d'opposer les « espèces » dont la teneur (A + T)/(G + C) est très constante *(Fusiformis nucleatus, Sphærophorus funduliformis* ou *pseudonecrophorus...)* à celles dont cette même teneur est susceptible de petites variations *(Fusiformis biacutus, Sphærophorus siccus...)*. Il pourrait s'agir dans le premier cas — d'espèces linnéennes ou jordaniennes, dans le deuxième cas — d'espèces syngaméennes.

Conclusions.

Les bactéries des groupes II et III sont incluses dans deux variétés nouvelles : *Sphærophorus siccus* var. *termitidis* et *Sphærophorus varius* var. *sulfitoreductans*.

(*) Sauf Te 53 dont les fermentations des glucides et le pouvoir uricolytique sont différents (cf. tableau 7).

TROISIÈME PARTIE

DISCUSSION

L'étude du rapport (A + T)/(G + C) de 145 souches anaérobies Gram-négatives nous a permis de reclasser de façon plus logique certaines d'entre elles, et d'envisager la modification de la position systématique de plusieurs espèces anaérobies Gram-négatives ; ceci permet, de plus, de douter de la validité de plusieurs genres. Mais avant d'attribuer au rapport (A + T)/(G + C) une telle valeur systématique, il est nécessaire de considérer la valeur des critères actuellement utilisés pour classer les bactéries anaérobies Gram-négatives. Ces critères, d'ordre essentiellement morphologique, peuvent être désignés par les termes « polymorphisme » et « morphologie des extrémités » ; nous en montrerons l'intérêt indéniable mais aussi l'insuffisance. Nous n'envisagerons pas le problème de la valeur systématique des caractères suivants : composition de la paroi, type fermentaire, sensibilité à divers inhibiteurs (bile, colorants...) ; sans en nier l'intérêt, on ne peut pas prétendre établir une classification naturelle des bactéries à l'aide de ces seuls caractères.

Nous envisagerons ensuite quelle valeur systématique on doit attribuer au rapport (A + T)/(G + C) en tenant compte, d'une part des « limites » de ce seul critère qui ne traduit pas toute la spécificité de l'espèce, d'autre part des faits d'ordre biochimique et génétique qui en confirment l'intérêt. Quelques modifications concernant la classification des bactéries Gram-négatives seront alors suggérées.

A. — LES CRITÈRES PHÉNOTYPIQUES UTILISÉS DANS LA CLASSIFICATION DES BACTÉRIES ANAÉROBIES GRAM-NÉGATIVES ; LEUR SIGNIFICATION, LEUR INSUFFISANCE

La classification des bactéries anaérobies Gram-négatives est particulièrement difficile parce qu'elles ne sont pas toxinogènes, ne sont pas pathogènes en culture pure, après passage sur milieux artificiels. Il faut

ajouter à cela leur extrême polymorphisme, leur fragilité, et de plus, il est souvent difficile de les isoler. Ces faits ont entraîné la description d'espèces nouvelles, alors qu'il s'agissait de culture mixtes ou symbiotiques (associations fusiformes-spirochètes, fusiformes-cocci), et la description de cycles complexes. Le polymorphisme est peut-être la conséquence de l'utilisation de milieux enrichis, mais ceux-ci sont indispensables à l'isolement de nombreuses espèces. La difficulté de mise en évidence de leur appareil ciliaire a conduit à des interprétations erronées de celui-ci, et même à l'inclusion de certaines souches Gram-négatives très probablement ciliées dans les Myxobactériales.

Mais, « faute de mieux » les critères morphologiques ont joué jusqu'à maintenant un rôle majeur dans toutes les classifications de ce groupe.

1° Valeur systématique du polymorphisme.

On entend par polymorphisme l'ensemble des formes apparemment spontanées qui éloignent une souche de sa forme bacillaire normale. Le polymorphisme d'une souche se manifeste par l'apparition, en culture jeune, de formes filamenteuses, ramifiées et de sphéroïdes. Ces diverses formes coexistent généralement dans les cultures ; aussi peuvent-elles être désignées par un même terme.

Le critère « polymorphisme » joue un rôle majeur dans la plupart des classifications ; il permet de distinguer les Actinomycétales des Eubactériales et, pour ne considérer que les bactéries anaérobies Gram-négatives, les *Sphærophoraceæ* des *Ristellaceæ* (130).

Depuis les premières observations de Hort (1919), de Lohnis (1921), de Mellon (1925), de nombreux auteurs estiment que les sphéroïdes sont des formes de conjugaison ; citons Smith (1944) (166), Dienes (1943) (50), (1944) (51), Prévot (1948) (140), Prévot et Raynaud (1948) (139), Klieneberger-Nobel (1950) (86), Stempen et Hutchinson (1951) (172), Morris (1953) (113). Prévot (1961 (149) Ip 179) considère les sphéroïdes comme « des formations physiologiques, naturelles, spontanées, intervenant dans le cycle évolutif normal de l'espèce ». Il s'oppose à l'identification entre sphéroïdes (formes normales, cycle polymorphique normal des *Sphærophorus*, *Streptobacillus moniliformis* et *Peripneumoniales*) et « formes anormales » obtenues artificiellement et généralement désignées sous le nom de formes L, donnant des colonies anormales. Cet auteur ((149) Ip 368) estime que les formes L, et elles seules, sont les manifestations d'une « véritable maladie de la paroi provoquée par des agents inhibiteurs de sa synthèse ».

A l'opposé, de nombreux auteurs considèrent que toute « forme anormale » est la conséquence d'une condition défavorable. Selon Wilkinson

et Duguid (1960) (193), les sphéroïdes ne correspondent pas à des formes de conjugaison : il s'agirait d'une « fusion apparente » et ils auraient la valeur de formes d'involution. Ces formations anormales seraient la conséquence d'un blocage de gènes ou d'enzymes impliqués dans la synthèse, soit du matériel nucléaire (donnant alors des formations filamenteuses contenant peu de noyaux), soit de la paroi cellulaire (s'il s'agit des parois cellulaires transversales, on obtient des filaments riches en noyaux ou des chaînes de streptobacilles ; s'il s'agit de l'ensemble de la paroi cellulaire, une déficience locale donne des formes ramifiées, une déficience plus complète, des corps globuleux). En effet, depuis que Pierce en 1942 (125) a mis en évidence la pénicillino-résistance des formes L (les formes bacillaires dont elles proviennent étant très sensibles à la pénicilline), il est possible d'obtenir à volonté des cultures L, induites par la pénicilline (52) (53), et d'ailleurs, par d'autres agents chimiques. Le mode d'action de la pénicilline a été élucidé par Lederberg (94) ; les relations entre sphéroplastes et cultures L ont été précisées par Lederberg et coll. (95).

Cependant, comme nous venons de le rappeler, certains auteurs doutent encore de l'identité entre formes sphériques spontanées et induites (*). Deux arguments peuvent être invoqués en faveur de leur non-identité ; les sphéroïdes ne donneraient pas de microcolonies du type L et ils paraissent se développer sur milieux non hypertoniques tant liquides que solides. Quelle est la valeur de ces arguments ?

Si l'on étudie des sphéroïdes « spontanés », leur pouvoir de multiplication sur milieu liquide ou solide ne pourrait être précisé que par micromanipulation : ce serait le seul moyen d'éliminer les très rares bacilles non transformés en formes sphériques ; ceux-ci pourraient être à l'origine des subcultures provenant, soi-disant, des formes sphériques elles-mêmes.

Par contre, si l'on étudie les cultures dites L de *Sphærophoraceæ*, induites par la pénicilline, il est plus facile de répondre.

Par l'étude de l'action de la pénicilline sur diverses souches de *Sphærophoraceæ*, nous avons confirmé les résultats des travaux cités : ces bactéries sont très sensibles à la pénicilline en milieu liquide (sensibilité à 1 à 5 U. O. par millilitre), mais sont » résistantes » à 1 000 U. O de pénicilline par millilitre en milieu gélosé. Rappelons que cette pénicillino-résistance est un caractère inhérent à l'état de sphéroplaste, la paroi de cette forme bactérienne étant dépourvue de sa couche mucopolysaccharidique (la pénicilline, en raison de son analogie structurale avec l'acide diaminopimélique, inhibe la synthèse de la lysine — l'acide diaminopimélique ou la lysine étant

(*) Les caractères principaux des formes sphériques et des cultures de type L sont rappelés dans le tableau 29 ; dans les pages qui suivent le terme de « sphéroïde » a le sens rappelé p. 6, et il désigne des formations sphériques apparues « spontanément », c'est-à-dire en l'absence d'un agent inducteur connu.

l'un des constituants fondamentaux de la couche mucopolysaccharidique de la paroi bactérienne (197)). Il ne s'agit pas de mutants pénicillino-résistants, car les subcultures obtenues à partir de sphéroplastes induits par la pénicilline sont aussi sensibles à la pénicilline en milieu liquide que la souche initiale. Les souches contenant une proportion élevée de sphéroïdes ont un comportement vis-à-vis de la pénicilline identique à celui des souches qui ne donnaient pas de sphéroïdes au moment où a été étudiée l'action de la pénicilline. Il nous paraît, de plus, intéressant d'opposer les faits suivants.

Un *Sphærophorus* (*) — cultivé sous vide à la surface d'une gélose VF inclinée (taux de gélose 12 °/oo) additionnée de 1 000 U. O. de pénicilline par millilitre, en présence de saccharose 0,3 M et parfois en l'absence de saccharose — donne des colonies de type L tout à fait typiques : colonies de petite taille, transparentes, adhérentes à la gélose, assez difficiles à transférer sur un milieu neuf ; des techniques spéciales sont nécessaires pour leur examen microscopique, contraste de phase ou fixation par le liquide Bouin.

Tableau 29. — *Classification des formations sphériques.*

	Agent	Paroi	Multiplication sur milieu solide	Réversion
Protoplaste des bactéries Gram-positives.	Lysozyme ou pénicilline.	o	o	o (rarement +)
Sphéroplaste des bactéries Gram-négatives.	*Id.*	Incomplète (absence de mucocomplexe).	+	+ (parfois o)
Forme L de type 3 A.	Conditions spéciales autres, parfois formes apparemment spontanées.	o	+	o [rarement + par mutation réverse (?)]
Forme L de type 3 B.	*Id.*	Incomplète.	+	+

(*) Étude réalisée à l'aide des souches 2852 *(Sph. ridiculosus)* et Bl_6 (*Sph. varius* var. *sulfitoreductans*).

Au contraire, la même souche peut être cultivée en gélose VF *profonde* (taux de gélose 8 °/oo) (*) additionnée de 1 000 U. O. de pénicilline par millilitre, et les sphéroplastes ainsi induits donnent des *colonies d'apparence normale* (**) (colonies lenticulaires de 2 à 3 mm de diamètre dans le cas des souches ici étudiées) : ces colonies contiennent exclusivement des formes sphériques et des subcultures en sont obtenues par passage sur milieu pénicilliné identique.

Puisque des sphéroplastes induits par la pénicilline se développent en gélose VF profonde sans donner de colonies dites L, il ne faut pas s'étonner du fait que des sphéroïdes puissent donner en gélose profonde des colonies d'apparence normale. Ceci est à rapprocher de l'observation que nous avons souvent faite sur des formes sphériques spontanées provenant de gélose profonde : cultivées à la surface d'une gélose inclinée, sous vide, elles retournent immédiatement et en masse à la forme bacillaire (alors qu'elles sont subcultivables en gélose profonde sous forme de sphéroïdes).

Ces faits, apparemment paradoxaux, sont aisés à expliquer. Les formes sphériques se développent mal à la surface d'une gélose parce qu'elles sont osmotiquement fragiles, en raison de la déficience de leur paroi. Les colonies L tendent à s'infiltrer dans la gélose et les fibrilles de gélose exercent une certaine pression sur la couche lipoprotéique restante de la paroi. Ces fibres de gélose n'agissent qu'en certains points d'un sphéroplaste : selon Lederberg et coll. (95), un tel mécanisme expliquerait tout particulièrement la forme plus irrégulière des corps globuleux en milieu gélosé (comparativement à celle observée en milieu liquide hypertonique). Lorsqu'une forme sphérique se trouve totalement incluse dans un milieu gélosé (cas des cultures en gélose profonde), une pression égale est exercée en tous les points de sa surface : elle peut conserver sa forme sphérique et, sans doute, échapper plus aisément à la lyse. Les sphéroplastes induits par la pénicilline en gélose VF profonde se multiplient dans un tel milieu, en l'absence de saccharose 0,3 M, et ils y donnent des colonies d'apparence normale (***). Ceci permet d'affirmer le pouvoir de multiplication des sphéroplastes induits par la pénicilline — et par conséquent, celui des sphéroïdes spontanés — sur nos milieux usuels, en gélose profonde (****), en l'absence de toute substance les protégeant de la lyse osmotique.

(*) Le taux minimum de gélose permettant la croissance des sphéroplastes « pénicillino-résistants » est de 5 °/oo.

(**) On peut seulement noter qu'elles se développent plus lentement et que la formation de gaz est moins abondante.

(***) Ces faits sont également à rapprocher des observations de Razin et Oliver (1961) (151) relatives à la morphogénèse des colonies des PPLO et des formes L.

(****) Sur milieu VF, gélosé à 8 °/oo et pénicilliné à 1 000 U. O./ml, le pourcentage des bacilles susceptibles d'être induits en sphéroplastes *viables* est de l'ordre de 10 ^{3}.

Les sphéroplastes des *Sphærophoraceæ* ne sont, par contre, pas viables en milieu liquide (isotonique ou hypertonique). Si l'on transfère en bouillon VF une culture provenant d'un milieu gélosé sans pénicilline et contenant 1 % environ de formes bacillaires (les formes sphériques ayant été préalablement induites par la pénicilline), on obtient un développement rapide, *dû à la multiplication des seules formes bacillaires* puisqu'il est inhibé par quelques unités de pénicilline. Lorsque l'on ensemence un inoculum semblant formé exclusivement de formes sphériques spontanées, un très faible pourcentage de formes bacillaires peut également être responsable du développement microbien. Les sphéroïdes sont très probablement incapables de se multiplier dans nos milieux liquides. Ceci pourrait être définitivement confirmé, dans l'avenir, par l'isolement de sphéroïdes (par micromanipulation) et tentative de culture.

Les formes sphériques spontanées sont réversibles. Leur réversion est aisée à observer dans le cas de cultures contenant près de 100 % de formes anormales : après un certain nombre de passages — variable selon les souches — ces formes retournent brusquement à la normale : ceci les rapproche des formes L de type 3 B. Une fois retournées à la forme bacillaire, elles ne redonnent pas en général spontanément de formes sphériques (exemple : *Sphærophorus varius* var. *sulfitoreductans*).

Lorsque, à l'isolement, les cultures contiennent une plus faible proportion de formes sphériques (5 à 50 %), il est parfois plus difficile d'affirmer leur réversion. Si cette dernière correspond à l'éventualité la plus fréquente, elle n'est pas constante : certaines souches, même après un très grand nombre de passages sur milieux divers, lyophilisation, etc., continuent à donner des formes anormales. Il pourrait alors s'agir de formes L de type 3 A.

Les sphéroïdes possèdent un appareil nucléaire facile à mettre en évidence par coloration de Robinow. Les sphéroïdes de *Sphærophorus funduliformis* (*), *Sphærophorus ridiculosus* (*), *Sph. siccus* var. *termitidis* ne possèdent généralement pas plus de 4 noyaux (fig. 1 *c*) ; ce nombre est beaucoup plus grand chez *Sph. varius* var. *sulfitoreductans* (fig. 4), tant dans les sphéroïdes que dans les formes filamenteuses. Ces constatations laissent supposer que la synthèse de leur ADN est normale, quantitativement parlant (elle paraît exagérée mais ceci est dû à l'absence de séparation des cellules) (**).

Les sphéroïdes des *Sphærophoraceæ* ont une paroi anormale. Ce fait avait été noté par Smith et coll. (1948) (167) pour *Sphærophorus funduliformis*

(*) A. R. Prévot, communication personnelle.

(**) L'ADN des formes sphériques a une composition en bases identique à celui des formes bacillaires correspondantes puisque le retour à la forme normale ne s'accompagne d'aucune variation de sa teneur en bases (cf. p. 41) ; les formes sphériques et bacillaires possèdent d'ailleurs des caractères biochimiques et culturaux identiques.

(voir les micrographies électroniques de ces auteurs). Nous avons confirmé ici l'existence d'une paroi généralement mince chez *Sphærophorus varius* var. *sulfitoreductans* (fig. 5). On peut noter dans les préparations l'abondance des parois vidées plus ou moins totalement de leur contenu protoplasmique (fig. 5). Notons, de plus, la facilité de lyse par l'EDTA *seul* des cultures contenant un pourcentage élevé de formes sphériques ; après retour à la forme bacillaire, elles ne peuvent être lysées que par action conjointe d'EDTA et de laurylsulfate de sodium. La sensibilité des sphéroïdes aux agents lytiques et leur résistance au choc osmotique, tout au moins en milieu gélosé, permettent de rapprocher ces formations des PPLO, chez lesquels Razin et Argaman (1961) (150) notent des propriétés voisines.

Des deux couches de la paroi, quelle est la couche anormale ? Si, dans le cas des sphéroïdes apparemment spontanés, la déficience de la paroi concernait la couche lipoprotéique, cultivés en présence de pénicilline ces sphéroïdes donneraient des formes *totalement* dépourvues de paroi, qui auraient des propriétés analogues aux protoplastes des bactéries Gram-positives et ne seraient pas viables, même sur milieu solide. Les sphéroïdes possèdent donc vraisemblablement une déficience de la couche mucopolysaccharidique de leur paroi. Ceci permet de comprendre leur « pénicillino-résistance ».

Il est possible d'assimiler les sphéroïdes des *Sphærophoraceæ* à des sphéroplastes. Mais, cultivés selon la technique pasteurienne, en gélose VF profonde, ils donnent des cultures d'apparence normale.

Nous n'avons pas essayé d'infirmer ou de confirmer par l'expérimentation l'hypothèse selon laquelle ces formations sphériques joueraient un rôle dans une reproduction sexuée chez ce groupe ; seule la mise en contact de deux sphéroïdes isolés par micromanipulation et provenant de souches marquées génétiquement permettrait d'être affirmatif. Lederberg et coll. (95) ont montré qu'un sphéroplaste unique isolé par micromanipulation, était capable de se diviser et de donner une colonie de type L, sans qu'il soit nécessaire de faire intervenir un phénomène sexuel ou parasexuel. Des « noyaux » abondants ne correspondent pas obligatoirement à une conjugaison ; ils sont la conséquence d'une déficience de la paroi.

Nous n'avons jusqu'ici envisagé que le problème des sphéroïdes. Une signification voisine peut être attribuée aux formes filamenteuses. Lederberg (94) (95) a observé que, à faible concentration, la pénicilline inhibe la formation des parois transverses, mais non celle des parois latérales, chez *Escherichia coli*. Chez les *Sphærophorus*, nous avons également constaté que, à concentration subinhibitrice (1 à 2 U. O. par millilitre), la pénicilline est susceptible d'induire la formation de filaments. Des sphéroplastes induits par la pénicilline, après cessation d'action de l'agent inducteur et passage sur milieu gélosé, poussent en milieu liquide en donnant, dans les

premières heures, des cultures filamenteuses (culture en grains visqueux, sans trouble du bouillon, et, à l'examen microscopique, présence de formes filamenteuses).

Il ne nous a pas été possible de préciser quel est l'agent responsable de la formation des sphéroïdes. Des conditions liées au milieu interviennent de façon certaine. Cependant, dans les mêmes conditions, d'autres souches ne produisent pas de telles formes. De nombreuses souches donnent, à l'isolement et pendant les premières subcultures, des formes sphériques puis retournent à la forme bacillaire. Ceci est un fait d'observation courante. Il est donc permis de penser que peut-être le milieu de culture ne fait que sélectionner des formes préalablement « anormales » en raison même de leurs conditions de vie (vie intra-cellulaire ou dans un milieu contenant des substances toxiques, etc.).

Le polymorphisme de ce groupe pourrait être la conséquence de leur vie parasitaire antérieure ; certaines conditions de culture favorisent leur sélection sur nos milieux artificiels. Les formes sphériques possèdent un même génotype que les formes bacillaires dont elles proviennent. On peut donc considérer qu'il s'agit de sphéroplastes « phénotypiques ». On peut être tenté d'en déduire que ces sphéroïdes n'ont aucune signification taxinomique ; cette attitude est de toute évidence erronée en raison de la constatation suivante : les espèces polymorphes de ce groupe possèdent un ADN de teneur (A + T)/(G + C) toujours supérieure à 1,40 et, le plus souvent, supérieure à 1,90, alors que les espèces non polymorphes ont toujours une teneur inférieure à 1,40. Une certaine composition en bases puriques et pyrimidiques du matériel génétique pourrait permettre l'expression d'une certaine morphologie. Il pourrait s'agir d'un cas particulier relevant d'une loi plus générale : les formes bacillaires simples ont rarement une teneur (A + T)/(G + C) de type « extrême » alors que cette teneur est inférieure à 0,6 chez *Sarcina*, *Mycobacterium*, *Micromonospora*, *Streptomyces*, *Nocardia*, supérieure à 1,9 chez *Streptococcus*, *Micrococcus*, bacilles sporulés anaérobies, *Sphærophoraceæ*, *Sporocytophaga myxococcoides*... (*). Des valeurs extrêmes, voisines de 0,4 et 2,7, pourraient correspondre à des formes évolutives extrêmes (des teneurs inférieures à 0,4 ou supérieures à 2,7 ne sont probablement pas « viables » ; ce serait la raison pour laquelle nous n'en trouvons pas). Il faut également rapprocher de ces faits le type GC extrême des bactéries autotrophes (*Chromatium* (0,56) (182)) et la constatation suivante : parmi les Eubactériales asporulées, celles possédant les teneurs (A + T)/(G + C) les plus faibles sont mobiles (*Pseudomonas* (0,5), *Fusocillus plauti* (0,55)) ; or les bactéries ciliées seraient phylogéniquement plus « anciennes » (98).

(*) Des exceptions existent cependant ; les *Neisseria* ont par exemple une teneur (A + T/(G + C) de 1,0. Les formes L des Entérobactéries ont une teneur en bases de type « intermédiaire ».

Les sphéroïdes, les formes filamenteuses ou ramifiées des *Sphærophoraceæ* ne sont pas dénués de valeur systématique (*) puisque les espèces les plus caractéristiques de ce groupe ont une teneur (A + T)/(G + C) particulièrement élevée.

Les considérations précédentes ne concernaient que les *Sphærophorus* donnant des sphéroïdes généralement de grande taille et apparaissant toujours dans des cultures en phase logarithmique de croissance. Leur forme bacillaire est pénicillinosensible ; ils ont une teneur (A + T)/(G + C) voisine de 2, sauf exception *(Sph. ridiculosus)*. A l'opposé les espèces du genre *Sphærophorus* donnant des sphéroïdes de petite taille et des formes filamenteuses en vieilles cultures n'ont jamais une teneur (A + T)/(G + C) élevée ; ils sont en général pénicillino-résistants.

En établissant une différence entre les espèces polymorphes de teneur (A + T)/(G + C) élevée et les espèces peu polymorphes chez lesquelles ce coefficient est voisin de l'unité, les classifications actuelles des bactéries Gram-négatives pourraient être améliorées. *Le polymorphisme n'est pas uniquement un artefact de laboratoire ; dans le groupe étudié ici une relation existe entre la morphologie et la composition en bases du matériel génétique, et nous devons en tenir compte.*

2° *Valeur du critère « morphologie des extrémités ».*

Dans la plupart des systématiques modernes, le critère « extrémités effilées » est un critère majeur de genre en ce qui concerne les bactéries anaérobies (*Bergey's Manual*, Krassilnikov, Prévot). Dans le *Bergey's Manual*, les genres *Bacteroides* et *Sphærophorus* sont séparés du genre *Fusobacterium*. Krassilnikov différencie *Pseudobacterium* et *Bacterium* de *Fusobacterium*. Prévot depuis 1938 utilise plusieurs termes génériques pour différencier les bactéries fusiformes *(Fusocillus* et *Fusiformis)* des bactéries non fusiformes *(Zuberella, Sphærocillus, Ristella, Sphærophorus)*. Si nous arrêtions là notre examen, il semblerait que voilà enfin un critère taxinomique au sujet duquel tous les systématiciens sont d'accord et qu'aucun doute n'existe dans leur esprit. Il n'en est rien. Divers auteurs hésitent à inclure telle espèce dans un genre « effilé » ou « non effilé ». La difficulté de trancher entre ces deux groupes a été signalée par Weiss et Rettger (1937) (191), Weinberg, Nativelle et Prévot (1937) (190), p. 815 (au sujet du bacille de Vincent ils écrivent : « Il peut parfois perdre son

(*) Rappelons à cette occasion, que nous savons fort peu de choses en ce qui concerne les formes correspondantes observées chez les Actinomycétales Gram-positives : des phénomènes sexuels n'ont que très rarement été mis en évidence chez elles de façon indiscutable ; le plus souvent il n'y aurait pas de conjugaison vraie, mais coexistence de noyaux d'origine différente dans un même filament cœnocytique. L'individualité taxinomique de ce groupe n'est pas niée pour cela...

aspect fusiforme et présenter des extrémités plus ou moins carrées »), Jackins et Barker (1951) (77), Prévot (1956) (36) (« Il nous arrive encore maintenant d'hésiter pendant 8 à 15 jours avant de nous prononcer entre le genre *Fusiformis* et le genre *Sphærophorus* »), Wilson et Miles (1946) (194) (Ils notent que l'espèce *necrophorus* présente des extrémités parfois effilées et parfois arrondies ; souvent on observe, disent-ils, une extrémité pointue alors que l'autre est plus épaisse). Il est assez difficile de comprendre la différence morphologique entre *Fusiformis hæmolyticus* Beerens et Gaumont, 1953 (bacille fusiforme de grande taille, 8 à 12 μ, souvent filamenteux, 15 à 20 μ) et *Leptotrichia hæmolytica* Bezjak, 1952 (bâtonnet court ou filamenteux à extrémités arrondies ou pointues). Beveridge (19), fidèle à la nomenclature de Topley et Wilson, se voit obligé d'inclure dans le g. *Fusiformis* l'espèce *nodosus* à extrémités arrondies et plus souvent renflées...

Mais Wilson et Miles (194) sont les seuls qui tiennent compte de ces faits et n'attribuent pas à la morphologie des extrémités une valeur dans le diagnostic de genre. Nous avons déjà rappelé qu'ils incluent dans le g. *Fusiformis* des espèces de morphologie très différente. Le genre *Fusiformis* tel qu'ils le conçoivent est « évidemment hétérogène », mais ils le maintiennent tel parce qu' « une division décisive de celui-ci serait prématurée » (il est seulement permis de se demander si, dans ces conditions, la dénomination de *Fusiformis* n'est pas particulièrement mal choisie...).

Ainsi tous les taxinomistes connaissent la relativité du critère « morphologie des extrémités » mais le conservent, ou par tradition, ou par souci de clarté, ou parce que la majorité des souches d'origine humaine ont une morphologie de leurs extrémités assez caractéristique. Pour les souches du groupe II étudiées ici, ce problème s'est posé d'emblée avec une acuité particulière, puisque de nombreuses souches possédaient régulièrement une extrémité effilée sur deux, l'autre étant arrondie ou plus ou moins carrée. Des souches effilées ou filiformes à l'isolement peuvent donner après quelques subcultures presque uniquement des bâtonnets à extrémités plus ou moins « carrées ».

En plus de la variabilité de ce caractère, on s'aperçoit qu'il manque d'homogénéité. Des bactéries sont dites « effilées » pour diverses raisons :

1° Leurs extrémités sont réellement pointues (# 514 *Fusiformis fusiformis*) ; ceci est en fait assez rare.

2° Les bâtonnets sont fins et longs mais leurs extrémités sont arrondies ; le terme de filiforme leur conviendrait mieux que celui de fusiforme. C'est le cas de la majorité des souches de *F. fusiformis* ; c'est également l'impression que donnent les micrographies électroniques de Morris (1953) (113) et celles de Hampp et coll. (1961) (69).

3° Très souvent l'aspect fusiforme n'est pas dû à des extrémités effilées,

mais à l'élargissement de la partie médiane (aspect en fuseau) : c'est le cas de *Fusiformis nucleatus*, *Fusiformis biacutus*, *Ristella clostridiiformis*. Un aspect très voisin est dans d'autres cas qualifié de « forme en navette » et considéré comme caractéristique du genre *Sphærophorus*.

Lorsqu'enfin on s'adresse non plus à des formes courtes, mais à des formes filamenteuses, la morphologie des extrémités est encore plus difficile à interpréter et ceci est la cause de la difficulté de diagnostic entre les genres *Fusiformis* et *Leptotrichia*.

Il est permis de se demander pourquoi l'espèce *biacutus* est incluse dans le g. *Fusiformis* alors que l'espèce *clostridiiformis* est rattachée au g. *Ristella*, pourquoi les espèces mobiles *clostridiiformis*, *nova* et *præacuta* décrites comme possédant des extrémités effilées sont incluses dans le g. *Zuberella* et non dans le g. *Fusocillus* (141). Nous avons montré ci-dessus que *Z. clostridiiformis* et *F. girans* sont probablement deux espèces identiques.

L'absence d'homogénéité du caractère « morphologie des extrémités » est confirmée par les variations importantes de la teneur (A + T)/(G + C) des espèces du genre *Fusiformis* et permet de se demander s'il ne s'agit pas d'espèces ayant une analogie morphologique mais dénuées d'affinités réelles. Il existe d'ailleurs d'autres espèces microbiennes possédant des extrémités effilées : *Clostridium naviculum*, *Clostridium microsporum*, *Thiodictyon elegans*, *Rhabdochromatium fusiforme (Rhabdomonas fusiformis)*, *Holospora elegans*, plusieurs espèces de *Cytophaga* et *Sporocytophaga*...

Les bactéries anaérobies Gram-négatives constituent le seul groupe microbien au sein duquel une morphologie effilée des extrémités est à l'origine de l'individualisation de genres spéciaux. Il s'agit d'un caractère variable, non homogène. Le genre *Fusiformis* ainsi défini n'est pas homogène quant à la teneur en bases de l'ADN de ses différentes espèces : ceci permet de douter des affinités réelles de ces dernières, et par conséquent de la valeur taxinomique du critère « morphologie effilée des extrémités ».

B. — INTÉRÊT SYSTÉMATIQUE DU RAPPORT (A + T)/(G + C)

Même dans l'éventualité assez improbable où le « code ADN » n'est pas universel, la teneur en bases de l'ADN semble devoir conserver une signification taxinomique et phylogénique ; aussi n'envisageons-nous pas ici le problème de l'universalité ou de la non-universalité du « code ADN ».

La valeur systématique du critère (A + T)/(G + C) a été rappelée dans l'historique en ce qui concerne les bactéries aérobies : la connaissance de ce rapport chez une centaine de souches appartenant à treize familles

différentes révèle seulement quelques exceptions *(Proteus vulgaris, Micrococcus lysodikticus, Neisseria catarrhalis)*. C'est surtout pour l'espèce *lysodikticus* que l'écart est considérable par rapport aux autres espèces du même genre : cette exception apparente est due à une position systématique erronée de l'espèce considérée.

La teneur (A + T)/(G + C) n'est pas rigoureusement identique pour toutes les espèces d'un même genre ou tous les genres d'une même famille ; cependant les écarts observés n'excèdent pas 0,3 au sein d'un même genre, sauf exception. Parmi les écarts les plus extrêmes citons *Micrococcus asaccharolyticus* (1,91) (97) et *Micrococcus pyogenes* (2,20) (97) ; *Pasteurella boviseptica* (1,66) (97), *Pasteurella oviseptica* (1,75) (97), *Pasteurella tularensis* (1,88) (97) ; *Corynebacterium parvum* (0,72) et *Corynebacterium acnes* (1,08) (97) ; *Clostridium valerianicum* (2,14) et *Plectridium saprogenes* (2,30) (97), etc. Ces écarts sont peu supérieurs à l'écart moyen de certaines espèces. Dans le genre *Bacillus* les écarts entre espèces sont plus significatifs ; on note des variations de 1,36 *(B. subtilis)* (97) à 2,00 *(B. cereus* var. *alesti)* (97), et même de 0,98 *(B. macerans)* à 2,07 *(B. alvei)* (109). Ceci n'a rien d'étonnant car le g. *Bacillus* contient des espèces relativement éloignées, différenciables par leur coloration de Gram, la position de leurs spores, etc. Notons que dans le g. *Bacillus* existe cependant une certaine continuité dans la variation de ce coefficient ; on connaît des valeurs intermédiaires. De façon très générale les résultats expérimentaux confirment le fait mis en évidence par Chargaff et son école : l'ADN des bactéries subit des variations d'espèce à espèce révélant leur diversité et les différences de composition en bases sont plus faibles entre espèces voisines qu'entre espèces éloignées. Compte tenu des variations possibles et du fait qu'elles n'excèdent en général pas 0,7 au sein d'un même genre, la valeur extrême observée chez *Micrococcus lysodikticus* garde bien son caractère anormal, de même les écarts observés entre les différentes espèces du g. *Fusiformis* (1,0 à 2,5) ou du g. *Sphærophorus* (1,2 à 1,4 et 1,9 à 2,4). La différence observée entre *Fusocillus plauti* (0,55) et *Fusocillus girans-Fusocillus pedipedis* (1,15) est d'interprétation plus délicate.

Les exceptions sont beaucoup plus nombreuses parmi les 145 souches anaérobies ici étudiées appartenant à 6 genres et 32 espèces, que parmi l'ensemble des souches précédemment étudiées. *La fréquence même de ces exceptions parmi les bactéries anaérobies Gram-négatives oblige à reconsidérer leur classification* (*). Tenant compte d'autre part des incertitudes concer-

(*) La fréquence élevée des « exceptions » ici observées ne doit pas nous étonner si l'on veut bien se rappeler qu'il s'agit de bactéries particulièrement difficiles à classer. Il est évident (et déjà confirmé par plusieurs travaux non encore publiés) que de telles « exceptions » sont trouvées chaque fois que l'on s'adresse à des espèces ou genres bactériens mal connus...

nant les critères utilisés dans la classification des bactéries Gram-négatives anaérobies, a-t-on le droit de modifier leur position systématique en fonction de leur teneur (A + T)/(G + C) ? Examinons les faits limitant la valeur de ce critère, puis, ceux permettant toutefois de le considérer comme un bon indice d'affinités entre souches ou espèces bactériennes.

1° Facteurs autres intervenant dans la spécificité de l'ADN

Des espèces manifestement très éloignées ont des teneurs (A + T)/(G + C) identiques : ce rapport est par exemple très voisin de 0,48 chez *Mycobacterium tuberculosis* (BCG), *Pseudomonas aeruginosa*, *Sarcina flava*, *Micromonospora* sp. (aérobie). En quoi diffèrent leurs ADN ? Peu de données positives permettent de répondre à cette question de façon précise, car nous connaissons mal la structure spatiale des désoxyribonucléoprotéines (et leur existence même selon certains), et nous n'analysons que des populations moléculaires d'ADN. La spécificité de l'ADN est loin d'être entièrement résumée dans sa teneur globale en bases : elle est déterminée par l'ordre d'enchaînement des nucléotides (« code ADN »). Il peut s'agir d'une spécificité intéressant une séquence nucléotidique (ou un petit nombre de séquences), ou l'ensemble de la chaîne polynucléotidique. L'existence d'une spécificité localisée à une séquence nucléotidique terminale est particulièrement difficile à prouver ; seule l'élimination de la possibilité suivante pourra constituer dans l'avenir un argument de présomption en sa faveur : il peut en effet s'agir d'une spécificité intéressant l'ensemble de la chaîne polynucléotidique. Parmi les travaux concernant les séquences nucléotidiques des ADN, citons les travaux de Chargaff et de son école permettant dès à présent d'affirmer l'existence de variations des séquences nucléotidiques entre ADN de même teneur (A + T)/(G + C), mais appartenant à des espèces différentes (Shapiro et Chargaff) (1956) (161), 1957 (162) (163), Tsumita et Chargaff, 1958 (181). Une hydrolyse acide partielle de l'ADN scinde la chaîne polynucléotidique de façon élective au niveau des nucléotides puriques et aboutit à la formation de diphosphonucléotides pyrimidiques (pTp et pCp) ou de fragments pyrimidiques oligonucléotidiques. Si la chaîne polynucléotidique était construite au hasard, les rapports T/C et pTp/pCp seraient identiques. Or Shapiro et Chargaff, étudiant par cette technique trois ADN d'origine différente (thymus de bœuf, rate humaine et *Arbacia lixula*) ayant un même rapport global T/C (respectivement 1,50 ; 1,51 ; 1,58), obtiennent des rapports molaires pTp/pCp très différents (tableau 30).

Dans les cas où de telles différences ne pourront pas être établies entre ADN de même teneur (A + T)/(G + C), on devra admettre l'éventualité d'une spécificité localisée à un petit nombre de séquences nucléotidiques

occupant une position privilégiée, en bout de chaîne, par exemple. Des ADN de même teneur en bases appartenant à deux espèces voisines pourraient ne différer que par quelques séquences nucléotidiques terminales alors que ceux appartenant à des groupes très éloignés (cas des ADN étudiés par Shapiro et Chargaff) auraient des séquences nucléotidiques très différentes. Un même rapport pTp/pCp pourrait, dans le cas d'espèces voisines, confirmer la première hypothèse. Si cependant des différences séquentielles peuvent être mises en évidence entre espèces voisines, elles constitueront un critère ultime d'espèce. De tels faits obligent à apporter une restriction quant à l'intérêt de la connaissance du seul critère (A + T)/(G + C). Ils rappellent que le problème de la spécificité de l'ADN est plus complexe que celui de la spécificité de sa teneur globale (A + T)/(G + C) : celle-ci n'en est qu'un aspect, le plus facile à explorer, le seul utilisable — si besoin est — comme critère de diagnostic courant.

Tableau 30. — *Variations du rapport pTp/pCp d'ADN de même teneur (A + T)/(G + C) selon Shapiro et Chargaff* (162).

	Bœuf (thymus)			Homme (rate)			*Arbacia lixula*		
Temps d'hydrolyse (*) . . .	I	II	III	I	II	III	I	II	III
pTp/pCp	2,58	2,49	2,56	4,77	3,26	3,07	1,80	1,86	2,15

(*) Les évaluations sont faites après des temps d'hydrolyse variables (I = 30 minutes, II = 60 minutes, III = 120 minutes), dans SO_4H_2 0,1 M à 100°. La production rapide de diphosphates pyrimidiques au stade I reflèterait le nombre de séquence — pPu.pPy p.Pu p — c'est-à-dire de nucléotides pyrimidiques « isolés » ; une formation lente ultérieure indiquerait l'existence de polynucléotides pyrimidiques « en association », plus résistants à l'hydrolyse.

Un certain nombre de faits confirment toutefois l'intérêt taxinomique de ce seul critère ; ils ont été établis par des méthodes biochimiques et génétiques, et permettent d'attribuer une valeur systématique à la teneur globale en bases de l'ADN, à condition de tenir compte des autres critères phénotypiques.

2° *Données confirmant l'intérêt taxinomique de la teneur (A + T)/(G + C).*

a) Données biochimiques. — L'ARN sert de « modèle » dans la synthèse des protéines et l'on a pu, à juste titre, s'étonner du peu de spécificité de la composition en bases de l'ARN bactérien, dont la teneur (G + C)/(A + U) ne varie que de 1,03 à 1,45. Ce fait est à l'heure actuelle expliqué par l'existence de 3 sortes d'ARN (ARN ribosomial, ARN de transfert et ARN-messager) (Jacob et Monod, 1961 (78)). Seul l'ARN-messager — intermédiaire cytoplasmique copié sur les gènes, et apportant au ribosome l'information génétique pour la synthèse d'une protéine donnée — a une composition en bases identique à celle de l'ADN. Comme l'ARN-messager correspond à moins de 10 % de l'ARN global (78), il influe peu sur la composition quantitative globale de l'ARN. La composition en bases de l'ARN-messager est plus difficile à préciser que celle de l'ADN, mais ceci montre l'intérêt de l'étude de la teneur en bases de l'ADN.

Ces faits sont confirmés par Weiss, Stevens, Hurwitz qui mettent en évidence le rôle précurseur de l'ADN dans la synthèse de l'ARN et surtout le rôle de la composition quantitative en bases de l'ADN précurseur, sur celle de l'ARN formé (tableau 31).

Tableau 31. — *Variations de la composition en bases de l'ARN en fonction de celle de l'ADN précurseur* d'après Hurwitz et al. (76).

Origine de l'ADN précurseur	(A + T)/(G + C) de l'ADN précurseur	(A + U)/(G + C) de l'ARN obtenu
Bactériophage T_2 . . .	1,86	1,85
Thymus de veau . . .	1,35	1,52
Escherichia coli . . .	1,00	0,93
Micrococcus lysodikticus .	0,40	0,48

Le fait que la composition en bases de l'ARN ainsi obtenu est susceptible de plus grandes variations que celles observées dans l'ARN total des microorganismes, montre bien que, *in vivo*, seule une partie de l'ARN a une composition en bases dépendante de celle de l'ADN.

A l'aide de polymères nucléosidiques de synthèse (« poly T » et « AT copolymer ») les auteurs précisent que la séquence des désoxyribonucléotides détermine celle des ribonucléotides. Ceci confirme les faits précédemment relatés.

Marmur et al. (1961) (108) (109), Schildkraut et al. (1961) (157) séparent par divers procédés les chaînes complémentaires de molécules d'ADN. La mise en contact de chaînes ainsi isolées et de différentes origines permet l'obtention de molécules hybrides, et ceci n'est possible qu'entre ADN provenant de microorganismes apparentés ayant une teneur globale en bases voisine. Cette condition n'est pas suffisante et une certaine homologie de leurs séquences est nécessaire. Une hybridation intergénérique est possible entre *Escherichia coli* et *Shigella dysenteriæ ;* une hybridation interspécifique est obtenue entre *Bacillus stearothermophilus* et *B. natto*, *B. brevis* et *B. subtilis* var. *atterimus*, *B. laterosporus* et *B. subtilis* var. *niger*, *B. sphæricus* et *B. polymyxa*, etc., c'est-à-dire entre espèces génétiquement liées et de même teneur (A + T)/(G + C) ; au contraire aucun lien n'existe entre espèces de *Bacillus* ayant des teneurs (A + T)/(G + C) différentes, ce qui confirme l'hétérogénéité de ce genre. Des organismes taxinomiquement voisins et de même composition globale en bases peuvent ne pas hybrider leurs ADN. Cependant l'ensemble de ces résultats confirme qu'aucun lien réel ne peut exister entre espèces microbiennes dont les teneurs (A + T)/(G + C) sont *très* différentes. Si nous admettons un écart maximum possible de 0,7 entre les teneurs (A + T)/(G + C) des diverses espèces d'un même genre, nous sommes probablement en deçà de la vérité.

Selon Sueoka, 1961 (175 *a*), des bactéries dont les teneurs (G + C) °/° diffèrent de 10 ne peuvent posséder que quelques molécules d'ADN de même composition en bases.

Une teneur (A + T)/(G + C) voisine est une condition nécessaire (mais non suffisante) à la possibilité d'hybridation de molécules d'ADN d'origines différentes. Après avoir regroupé des souches et espèces bactériennes en fonction de leur teneur (A + T)/(G + C) et, bien entendu, de leurs caractères phénotypiques, il sera nécessaire de confirmer (ou d'infirmer) les affinités de ces bactéries par essai d'hybridation de leurs ADN.

b) Données génétiques. — Les espèces entre lesquelles ont été réalisées des recombinaisons génétiques ont une composition quantitative en bases puriques et pyrimidiques voisine (92) (155) (156) (37 *a*), qu'il s'agisse de recombinaisons intraspécifiques *(Hæmophilus influenzæ)*, interspécifiques *(H. influenzæ*, *parainfluenzæ* et *suis)*, intergénériques *(Dipplococcus pneumoniæ* et *Streptococcus viridans* ou *salivarius)*, intertribales *(Escherichia coli* et *Shigella dysenteriæ*, *flexneri* ou *boydii)*, interfamiliales (*) *(Salmonella* et *Serratia)* (Cf. Schaeffer (155) (156) et bibliographie citée).

Entre souches d'*Hæmophilus influenzæ* et *parainfluenzæ* de composition

(*) Selon la classification de Prévot, mais intertribales selon celle de Bergey.

en bases de leur ADN voisine mais différente, l'ordre dans lequel se rangent les ADN est le même qu'on les range par activité transformante croissante ou par teneur en adénine croissante (Schaeffer, 1961). Le rapport entre le nombre de bactéries transformées dans une réaction interspécifique et le nombre correspondant obtenu dans la réaction intraspécifique pourrait être interprété comme mesurant la parenté entre les deux espèces (156). Schaeffer (articles précités) envisage la nécessité de tenir compte, dans une systématique de l'avenir, de telles possibilités de recombinaisons génétiques entre groupes apparemment éloignés. Prévot (149) admet également ce point de vue et insiste sur le fait que ces données génétiques, dans un proche avenir du moins, semblent limitées à quelques groupes bactériens « privilégiés ». Les recombinaisons génétiques n'ont abouti qu'à des modifications portant sur un petit nombre de caractères (résistance à la streptomycine, pouvoir de fermenter certains glucides, formule antigénique), alors qu'il est impossible de modifier d'autres caractères. Il pourrait donc ne s'agir que d'homologies génétiques locales (156) (*). Au sein d'espèces transformables, nombreuses sont les souches qui ne le sont pas et ce fait restreint la portée pratique éventuelle de tels phénomènes ; la connaissance de la teneur (A + T)/(G + C), en tant que critère nécessaire (mais non suffisant) à une possibilité de recombinaison génétique, peut pallier partiellement cet inconvénient.

La convergence des conclusions auxquelles aboutissent biochimistes et généticiens mérite d'être notée.

Ces faits confirment l'intérêt systématique de la connaissance de la teneur (A + T)/(G + C). Ce critère génotypique ne doit pas être considéré isolément mais doit toujours être confronté avec l'ensemble des caractères phénotypiques. Il pourra alors être utilisé en taxinomie. Il ne faut pas en effet oublier qu'une même teneur globale (A + T)/(G + C) peut entraîner une fausse homologie, voire correspondre à une communauté totalement aspécifique. Barbu et coll. (1961) (3) mettent en évidence une communauté ribosomiale entre certaines espèces très éloignées dans toutes les classifications. Une telle communauté existe par exemple entre *Welchia perfringens*, *Clostridium sporogenes*, *Fusiformis fusiformis*, streptocoques des groupes A et D, *Ristella perfœtens* et, à un moindre degré il est vrai, *Micrococcus lysodikticus*. Ces auteurs concluent de façon très judicieuse qu'aucune conséquence taxinomique ne peut être tirée d'une telle parenté antigénique. Il paraît toutefois intéressant de remarquer ici que *W. perfringens*, *Cl. spo-*

(*) Cette restriction est en partie infirmée par l'obtention de molécules hybrides d'ADN à partir d'espèces liées génétiquement, car une telle hybridation implique une communauté de séquences nucléotidiques relativement étendue. Il est d'ailleurs possible, par hybridation, de différencier une homologie partielle (*Sh. dysenteriæ* et *E. coli*) d'une homologie plus étendue (*B. subtilis* et *B. natto*) (Schildkraut et al., 1961 (157)).

rogenes, *F. fusiformis*, streptocoques et *R. perfœtens* sont tous de type AT extrême, supérieur à 1,9 (seul *M. lysodikticus* fait exception). Il est probable qu'il ne s'agit pas d'un hasard. Une telle communauté ribosomiale dépend sans doute de quelques séquences nucléotidiques communes de leurs ADN ; ces dernières pourraient être plus fréquentes entre espèces dont l'ADN est de même type, sans que pour cela il existe une relation génétique entre ces espèces.

Compte tenu de ces remarques et du lien très général entre teneur globale en bases de l'ADN et position systématique, quel degré d'affinité le critère (A + T)/(G + C) est-il susceptible de nous préciser ?

1° Il s'agit d'un critère d'espèce comme l'a mis en évidence l'école de Chargaff. Toutes les souches d'une même espèce ont une teneur en bases de leur ADN voisine. Des exemples en ont été donnés dans la littérature et la plupart de nos résultats confirment ces données. Des variations notables peuvent cependant exister comme il a été rappelé précédemment ; il semble possible de distinguer deux « types » d' « espèces » :

α) Celles dont la teneur (A + T)/(G + C) est très constante (écart moyen < 0,06), par exemple *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Fusiformis nucleatus*, *Fusocillus girans*, *Fusocillus plauti*, *Ristella clostridiiformis*.

β) Celles dont la teneur (A + T)/(G + C) est susceptible de plus grandes variations (0,06 à 0,11) : *Micrococcus pyogenes*, *Bacillus cereus*, *Ristella insolita*, *Fusiformis biacutus*, *Sphærophorus siccus* var. *termitidis*.

On pourrait admettre que dans le deuxième cas l'espèce a la valeur d'une « unité syngaméenne » alors que dans le premier cas il s'agirait d'une « unité linnéenne ». Les variations observées dans le deuxième cas s'accompagnent d'ailleurs de variations biochimiques. Dans le cas de *F. biacutus*, les souches dont la teneur (A + T)/(G + C) est la plus basse correspondent à une variété (et peut-être à une espèce différente ?).

2° S'agit-il d'un critère de genre ? — Chargaff et son école, puis de nombreux auteurs, ont mis en évidence par leurs travaux que des espèces voisines ont des teneurs (A + T)/(G + C) voisines, et que des écarts plus ou moins grands entre elles révèlent leur plus ou moins grande parenté. Les généticiens et biochimistes confirment ce fait en montrant qu'une recombinaison génétique et une hybridation moléculaire d'ADN ne sont possibles qu'entre souches de teneurs (A + T)/(G + C) voisines. Ils précisent que la fréquence de transformation intraspécifique est en rapport direct avec les variations faibles de (A + T)/(G + C) et qu'une hybridation moléculaire implique une certaine communauté de séquences nucléotidiques.

Des faits, plus nombreux chaque jour, montrent que des espèces dites voisines, mais très éloignées par la teneur en bases de leur ADN, ne peuvent pas posséder de parenté réelle et que nous devons modifier leur position systématique. Le rôle taxinomique du genre étant de grouper des espèces voisines, celles-ci doivent avoir des teneurs (A + T)/(G + C) voisines.

En ce qui concerne les bactéries aérobies, les différentes espèces d'un même genre ont une teneur (A + T)/(G + C) voisine ; l'exception *Micrococcus lysodikticus* a déjà été expliquée. Les espèces aérobies et anaérobies d'un même genre ont un ADN de même type. Plus un genre est homogène, plus les espèces qu'il groupe ont des teneurs (A + T)/(G + C) voisines. Le genre *Bacillus* est probablement l'un des genres les moins homogènes sous cet aspect, pour ne considérer que les bactéries aérobies. Lorsqu'une discontinuité existe entre les teneurs (A + T)/(G + C) des diverses espèces d'un même genre, on peut douter de la validité de celui-ci, c'est le cas pour les genres *Ristella*, *Sphærophorus* et surtout *Fusiformis*. Des arguments phénotypiques sont en faveur de cette opinion.

Malgré les quelques restrictions apportées à la signification de la teneur (A + T)/(G + C), les classifications actuelles des bactéries anaérobies Gram-négatives peuvent être améliorées en tenant compte de ce critère : un regroupement des espèces anaérobies ici étudiées peut être envisagé en conservant dans le genre *Ristella* les espèces de teneur (A + T)/(G + C) inférieure à 1,40, et dans le genre *Sphærophorus* celles de teneur (A + T)/(G + C) supérieure à 1,40 ; elles sont les plus nombreuses et les plus caractéristiques de chacun de ces genres. Les espèces ainsi exclues de leur place primitive seront regroupées en fonction de ce même critère et de leurs caractères phénotypiques. Le caractère « extrémités effilées » ne possède aucune valeur taxinomique réelle ; plusieurs bactériologistes ont déjà eu conscience de ce fait qui est confirmé ici. La suppression des genres *Fusocillus* et *Fusiformis (Fusobacterium)* doit être envisagée.

3° Quant à la valeur du coefficient (A + T)/(G + C) en tant que critère de famille, elle semble assez générale d'après Belozersky et Spirin. En ce qui concerne les bactéries anaérobies ici étudiées, elle sera également valable, puisque les genres *Sphærophorus-Sphærocillus* d'une part, *Ristella-Zuberella* d'autre part, qui sont les seuls que nous proposerons de conserver, ont des teneurs (A + T)/(G + C) différentes et sont déjà inclus par Prévot dans deux familles, celle des *Sphærophoraceæ* et celle des *Ristellaceæ*.

L'ensemble de ces résultats confirme la division de ce groupe en deux familles, *Ristellaceæ* et *Sphærophoraceæ*, proposée par Prévot en 1938. Cet auteur les inclut dans les deux ordres respectifs suivants : *Eubacteriales* et *Actinomycetales* (voir leur définition p. 7). Il est permis d'avoir des doutes quant à la validité de l'inclusion des *Sphærophoraceæ* dans les

Actinomycetales, si l'on songe qu'une déficience de la paroi bactérienne peut être à l'origine des formes filamenteuses, des ramifications ou des sphéroïdes, et que les sphéroïdes ne résultent probablement pas d'une conjugaison. Mais ces réserves sont également valables pour les Actinomycétales Gram-positives, chez lesquelles le mécanisme d'apparition des formes filamenteuses et des corpuscules dits reproducteurs est peut-être voisin de celui que nous venons d'envisager pour les *Sphærophoraceæ ;* un stade diploïde n'a pas été mis en évidence de façon indiscutable chez les Actinomycétales Gram-positives. Il est donc possible de rattacher selon l'opinion de Prévot, les *Sphærophoraceæ* aux Actinomycétales. On pourrait, de plus opposer les *Sphærophoraceæ* de type AT aux *Actinomycetaceæ* de type GC. Mais les différentes familles d'une même classe sembleraient pouvoir posséder des teneurs $(A + T)/(G + C)$ très différentes *(Neisseriaceæ* et *Micrococcaceæ*, *Enterobacteriaceæ* et *Brucellaceæ).*

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Aucun des critères utilisés dans les classifications phénotypiques actuelles n'a de valeur certaine. S'il veut tenter de classer des bactéries, le bactériologiste doit utiliser des critères génotypiques : recombinaisons génétiques, caractères de l'ADN (teneur en bases, hybridation de molécules d'ADN). Nous avons réalisé à l'aide de 145 souches anaérobies Gram-négatives asporulées, une étude comparée de leurs caractères phénotypiques (morphologiques, culturaux, biochimiques) et de la teneur en bases de leurs ADN.

Une contribution a été apportée à l'étude de la flore intestinale anaérobie, Gram-négative et asporulée des Isoptères et des Dictyoptères. Il a été montré que le termite *Reticulitermes lucifugus* var. *saintonnensis (Rhinotermitidæ)* ne possède pas de flore cellulolytique mais essentiellement une flore Gram-négative anaérobie asporulée ; les bactéries les plus typiques et les plus constantes chez ce termite ont été identifiées *Sphærophorus siccus :* elles correspondent à une variété écologique et biochimique pour laquelle est proposée la dénomination de *Sphærophorus siccus* var. *termitidis* (var. nouv.). D'autres bactéries anaérobies Gram-négatives ont été isolées de façon exceptionnelle : *Ristella capillosa* et *uniformis*, *Zuberella rhinitis*, *Sphærophorus abscedens* et *Sphærophorus abscedens* var. *niger* (var. nouv.).

L'existence de bactéries Gram-négatives anaérobies a été aussi recherchée dans le tube digestif de *Blatta orientalis*. Il en a été isolé (ainsi que, vraisemblablement, dans ses tubes de Malpighi) des bactéries anaérobies Gram-négatives, sulfito-réductrices et uricolytiques, voisines d'une souche provenant de l'intestin postérieur de *Reticulitermes lucifugus*. Elles peuvent être identifiées comme étant *Sphærophorus varius :* elles en constituent une variété biochimique pour laquelle est proposée la dénomination de *Sphærophorus varius* var. *sulfitoreductans* (var. nouv.). Des bactéries appartenant à cette même variété ont été retrouvées dans le cæcum de *Mus musculus*. Quelques souches de collection — d'origine animale le plus souvent — peuvent aussi être rattachées à cette variété.

On peut suggérer l'identité de *Sphærophorus siccus* var. *termitidis* avec *Fusiformis termitidis* Hoelling, et celle de *Sphærophorus varius* var. *sulfito-*

reductans avec *Fusiformis muris* Hoelling ; mais il n'est pas possible d'être affirmatif, surtout en ce qui concerne *Sphærophorus siccus* var. *termitidis*. Les bactéries de Hoelling peuvent tout aussi bien être différentes de celles isolées ici : il peut en effet s'agir de symbiotes obligés, incultivables sur nos milieux artificiels. Pour tenir compte de cette éventualité, le terme de *Fusiformis* ne doit être appliqué ni aux souches ici décrites, ni aux bactéries anaérobies strictes Gram-négatives cultivables sur milieux artificiels : le terme générique *Fusiformis* Hoelling est illégitime pour elles.

De nombreuses espèces anaérobies asporulées Gram-négatives ont été décrites. L'autonomie de certaines d'entre elles peut être mise en doute. En raison de leur variabilité morphologique, il est difficile de les classer. Des espèces taxinomiquement voisines ont des teneurs (A + T)/(G + C) voisines : ceci est un fait général, vérifié pour de nombreuses espèces bactériennes aérobies : seules existent quelques exceptions qui ont déjà été expliquées. La fréquence beaucoup plus élevée des exceptions observées parmi les bactéries anaérobies Gram-négatives est due à la connaissance plus imparfaite que nous avons de ce groupe.

Les souches mobiles et ciliées des genres *Zuberella* et *Fusocillus* (espèces *girans*, *pedipedis*, *clostridiiformis*) ont une teneur (A + T)/(G + C) voisine de 1,15 ; l'espèce *plauti* s'éloigne de cette valeur (0,55), mais cet écart paraît compatible, temporairement, du moins, avec leur inclusion dans un même genre. De plus, l'existence d'une ciliature monotriche subpolaire ou péritriche a été mise en évidence chez *Fusocillus girans ;* la variation monotriche → péritriche existe au sein de cette espèce. L'identité des espèces *Zuberella clostridiiformis* Choukevitch et *Fusocillus girans* Prévot est montrée ; le premier terme, quoique prioritaire chronologiquement, doit être supprimé en raison de la confusion possible avec une autre espèce Gram-négative, anaérobie et immobile, *Ristella clostridiiformis* Burri et Ankersmit, 1906.

Un regroupement en un genre commun *Zuberella*, des genres *Zuberella* Prévot, 1938 et *Fusocillus* Prévot, 1938 est suggéré. Il réunira toutes les espèces anaérobies mobiles asporulées de teneur (A + T)/G + C) voisine de 1. Les espèces mobiles de teneur (A + T)/(G + C) voisine de 2 pourraient être incluses dans le genre *Sphærocillus* Prévot, 1938. Les espèces immobiles incluses à tort dans ces genres sont reclassées. Les bactéries anaérobies mobiles et ciliées ne peuvent pas être incluses dans l'ordre des *Myxobactériales* comme il a été proposé récemment.

Le genre *Fusiformis (Fusobacterium)* est particulièrement hétérogène puisque les espèces *nucleatus*, *fusiformis*, *hæmolyticus polymorphus* et *biacutus* ont, respectivement, une teneur (A + T)/(G + C) de 2,5, 2,0, 2,0, 1,1 et 1,0. Une relation phylogénique est suggérée entre les espèces *Fusocillus girans* (mobile) et *Fusiformis biacutus* (immobile) dont tous les

caractères sont identiques, et dont les teneurs en bases sont voisines. La variété ocre de *Fusiformis nucleatus* possède une teneur (A + T)/(G + C) très différente de celle de l'espèce-type et ceci permet d'infirmer sa parenté avec l'espèce *F. nucleatus*.

Cinq espèces du genre *Ristella* ont une teneur (A + T)/(G + C) inférieure à 1,4 ; elles ne sont pas polymorphes. Deux espèces de ce genre, *perfœtens* et *clostridiiformis* ont une teneur (A + T)/(G + C) voisine de 2,2 ; or l'espèce *perfœtens* avait été rattachée par Tissier au genre *Coccobacillus* et l'espèce *clostridiiformis* Burri et Ankersmit a une dénomination assez suggestive de sa morphologie... L'espèce *uniformis* a une valeur (A + T)/(G + C) intermédiaire (1,70), mais aucun autre caractère ne l'éloigne des cinq premières espèces citées du genre *Ristella*.

Parmi les douze espèces étudiées du genre *Sphærophorus* Prévot, les plus typiques par leur polymorphisme ont une teneur (A + T)/(G + C) supérieure à 1,90 (espèces *funduliformis*, *necrophorus*, *pseudonecrophorus*, *varius*, *siccus*, *pyogenes*, *influenzæformis*) ; seule fait exception l'espèce *ridiculosus* (1,42). Toutes les espèces non polymorphes ont une teneur (A + T)/(G + C) comprise entre 1,10 et 1,40 (espèces *glycolyticus*, *abscedens*, *gulosus*, *freundi*).

Les quelques souches étudiées du genre *Leptotrichia* ont une teneur (A + T)/(G + C) voisine de 2. Si elles sont Gram-négatives, elles devraient être exclues de ce genre. Mais seule une étude sur un plus grand nombre de souches et d'espèces de ce genre permettra de prendre une décision.

Une teneur (A + T)/(G + C) voisine de 2 est généralement liée au caractère « polymorphisme » ; celui-ci ne peut pas être considéré comme la cause d'un rapport anormalement élevé car il s'agit bien d'un critère spécifique d'espèce, qui ne varie pas après retour de la souche à la forme normale. Le systématicien doit tenir compte du caractère « polymorphisme » lorsqu'il classe les bactéries anaérobies Gram-négatives, bien que les « sphéroïdes » aient la valeur de sphéroplastes phénotypiques et ne correspondent pas à des formes de conjugaison.

Un regroupement plus logique des espèces anaérobies Gram-négatives doit être envisagé en tenant compte de ces faits. Un écart de la teneur (A + T)/(G + C) supérieur à 0,7 entre les diverses espèces d'un même genre ne semble pas pouvoir être admis si l'on considère l'ensemble des résultats obtenus pour les bactéries aérobies.

La suppression du genre *Fusiformis (Fusobacterium)* est proposée en raison de son absence totale d'homogénéité quant à la teneur (A + T)/(G + C) de ses espèces. La morphologie effilée ou non des extrémités ne s'accompagne d'aucune possibilité de communauté génotypique ; les espèces du genre *Fusiformis (Fusobacterium)* doivent être incluses dans les genres *Ristella* ou *Sphærophorus* selon que leur teneur (A + T)/(G + C) est inférieure à 1,40 ou supérieure à 1,90. Les espèces actuellement incluses

dans les genres *Ristella* ou *Sphærophorus* doivent être reclassées dans l'un ou l'autre de ces genres en fonction de ce même critère. Quelques rares espèces semblent avoir une valeur intermédiaire : c'est alors leur morphologie qui, *provisoirement*, nous permet de les rattacher à tel ou tel groupe : les espèces *ridiculosus* et *uniformis* sont, pour cette raison, maintenues respectivement dans les genres *Sphærophorus* et *Ristella*.

Une solution de continuité existe entre les teneurs (A + T)/(G + C) des genres *Zuberella* et *Ristella* d'une part, *Sphærocillus* et *Sphærophorus* d'autre part ; elle confirme la validité de ces quatre genres et la nécessité de continuer à les inclure dans deux familles distinctes (*Ristellaceæ* et *Sphærophoraceæ*) comme l'a proposé Prévot en 1938. Rien sans doute n'est absolu en biologie ; en raison de l'existence de rares formes intermédiaires on peut penser qu'il s'agit d'une série continue dont certaines formes seules ont persisté.

La teneur globale (A + T)/(G + C) de l'ADN bactérien n'est pas un critère ultime d'espèce, mais des espèces génétiquement et phylogéniquement voisines ne peuvent pas avoir des teneurs en bases très éloignées. Le rôle taxinomique du genre bactérien étant de grouper des espèces voisines, un genre donné doit être assez homogène quant à la teneur (A + T)/(G + C) des espèces groupées.

Dans le but de tenir compte des affinités possibles entre les bactéries anaérobies Gram-négatives, la classification suivante est suggérée (tableau 32) :

Famille : *Ristellaceæ*.

Genre : *Zuberella*.

Bâtonnet droit, asporulé, mobile ; ciliature péritriche ou monotriche subpolaire ; extrémités arrondies ou effilées ; Gram-négatif ; teneur (A + T)/(G + C) inférieure à 1,4.

Espèces : *girans, pedipedis, plauti*.

En position provisoire : toutes les autres espèces incluses dans les genres *Zuberella* et *Fusocillus* par Prévot (149).

Genre : *Ristella*.

Bâtonnet droit, asporulé, immobile, acilié ; non encapsulé ; extrémités arrondies ou effilées ; Gram-négatif ; teneur (A + T)/(G + C) inférieure à 1,4.

Espèces : *incommunis, insolita, pseudoinsolita, gulosa, freundi, biacuta, polymorpha, abscedens, glycolytica, uniformis, distasonis, tumida, ochracea* (ex *F. nucleatus* var. *ochraceus*).

En position provisoire : *R. vesca* et toutes les autres espèces incluses dans le genre *Ristella* par Prévot (149) sauf *R. clostridiiformis* et *R. perfœtens*.

TABLEAU 32. — *Tableau récapitulatif de la teneur en bases de l'ADN de 30 espèces anaérobies Gram-négatives asporulées.*

Ristellaceæ	(A + T)/(G + C)	(G + C) %	*Sphærophoraceæ*	(A + T)/(G + C)	(G + C) %
Zuberella plauti	0,55 ± 0,04	64	*Sphærocillus bullosus* var. non gazogène	2,08	32
» *pedipedis*	1,14 ± 0,01	46			
» *girans*	1,16 ± 0,06	46			
			Sphærophorus necrophorus	2,00	33
Ristella incommunis	1,26	44	» *funduliformis*	2,00 ± 0,05	33
» *insolita*	1,40 ± 0,04	41	» *hæmolyticus*	2,06	32
» *pseudo-insolita*	1,29 ± 0,11	43	» *pseudonecrophorus*	2,00 ± 0,01	33
» *gulosa*	1,35 ± 0,05	42	» *pyogenes*	1,93	34
» *freundi*	1,30 ± 0,05	43	» *perfœtens*	2,29	30
» *biacuta*	1,03 ± 0,08	49	» *clostridiiformis*	2,23 ± 0,01	30
» *polymorpha*	1,13 ± 0,05	46	» *varius* var. *sulfito-reductans*	2,38 ± 0,06	29
» *abscedens*	1,20 ± 0,06	45	» *siccus*	2,20	31
» *glycolytica*	1,31 ± 0,03	43	» *siccus* var. *termitidis*	2,05 ± 0,10	32
» *uniformis*	*1,71* ± 0,02	*36*	» *ridiculosus*	*1,42* ± 0,04	*41*
» *distasonis*	1,36	42	» *influenzæformis*	2,24 ± 0,01	30
» *tumida*	1,21	45	» *fusiformis*	2,07 ± 0,10	32
» *ochracea*	1,33	42	» *nucleatus*	2,59 ± 0,03	27

Famille : *Sphærophoraceæ.*

Genre : *Sphærocillus.*

Bâtonnet asporulé, mobile ; ciliature monotriche ou péritriche, Gram-négatif, polymorphe ; teneur (A + T)/(G + C) voisine de 2.

Espèce-type : *Sph. bullosus.*

En position provisoire : toutes les autres espèces du genre *Sphærocillus* Prévot (149).

Genre : *Sphærophorus.*

Bâtonnet polymorphe en cultures jeunes (formes ovoïdes à coloration bipolaire ; formes filamenteuses ; sphéroïdes de grande taille libres ou sessiles ; extrémités arrondies ou effilées) ; immobile ; acilié ; asporulé ; Gram-négatif ; teneur (A + T)/(G + C) toujours supérieure à 1,40 et, le plus souvent, supérieure à 1,90.

Espèces : *necrophorus*, *funduliformis*, *hæmolyticus*, *pseudonecrophorus*, *perfœtens*, *clostridiiformis*, *varius*, *siccus*, *ridiculosus*, *pyogenes*, *influenzæformis*, *fusiformis*, *nucleatus.*

En position provisoire : les autres espèces incluses par Prévot (149) dans ce genre et non reclassées dans le genre *Ristella.*

BIBLIOGRAPHIE

1. Baird-Parker (A. C.). — The classification of *fusobacteria* from the human mouth. *J. gen. Microbiol.*, 1960, **22**, 458-469.
2. Barbu (E.). — *In* Thomas (J. A.). Mécanismes d'autoreproduction. Exposés actuels de biologie cellulaire. Masson, éd., Paris, 101-173 : Organisation des acides nucléiques et autoreproduction chez les virus.
3. Barbu (E.), Panijel (J.) et Quash (G.). — Caractérisation immunochimique des ribosomes. *Ann. Inst. Pasteur*, 1961, **100**, 725-746.
4. Bastien (P.), Beerens (H.), Breynaert (R.), Fievez (H.) et Van Agt (J.). — Un cas de septicémie à *Ristella incommunis*. *Lille Médical*, 1961, **6**, 224-226.
5. Beckwith (T. D.) et Rose (E. J.). — Cellulose digestion by organisms from the termite gut. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1929, **27**, 4-6.
6. Beerens (H.) et Aladame (N.). — Sur une nouvelle bactérie anaérobie : *Ristella pseudo-insolita* nov. sp. *Ann. Inst. Pasteur*, 1949, **76**, 476-478.
7. Beerens (H.). — Utilisation de l'action bactériostatique du violet de gentiane pour la différenciation des bactéries anaérobies à Gram-négatif. *Ann. Inst. Pasteur*, 1952, **82**, 235-237.
8. Beerens (H.) et Gaumont (R.). — Sur un nouveau bacille fusiforme : *Fusiformis hemolyticus* (nov. sp.) responsable d'une infection spontanée du lapin. *Ann. Inst. Pasteur, Lille*, 1953, **5**, 113-118.
9. Beerens (H.). — Procédé de différenciation entre *Spherophorus necrophorus* (Schmorl, 1891) et *Spherophorus funduliformis* (Hallé, 1898). *Ann. Inst. Pasteur*, 1954, **86**, 384-386.
10. Beerens (H.). — Milieux sélectifs pour l'isolement de quelques espèces de bactéries anaérobies à Gram-négatif. *Ann. Inst. Pasteur Lille*, 1958, **9**, 86-89.
11. Beerens (H.), Guillaume (J.) et Petit (H.). — Étude de la fermentation propionique de la L(—) thréonine par 45 souches de bactéries anaérobies non sporulées à Gram-négatif. *Ann. Inst. Pasteur*, 1959, **96**, 211-216.
12. Beerens (H.) et Castel (M. M.). — Action de la bile sur la croissance de certaines bactéries à Gram-négatif. *Ann. Inst. Pasteur*, 1960, **99**, 454-456.
13. Beerens (H.), Piquet (J. J.), Leroy (L.) et Ghestem (P.). — Un cas de méningite aiguë à *Ristella variabilis*. *Lille médical*, 1960, **5**, 406-407.
14. Belozersky (A. N.). — Reports on the international Symposium « The origin of life on the Earth », Moscou, 1957.
15. Belozersky (A. N.) et Spirin (A. S.). — *In* Chargaff (E.) et Davidson (J. N.). The nucleic acids. Academic Press, éd., New York, 1960, **3**, 147-185 : Chemistry of the nucleic acids of microorganisms.
16. Bendich (A.). — *In* Chargaff (E.) et Davidson (J. N.). The nucleic acids. Academic Press, éd., New York, 1955, **1**, 81-136 : Chemistry of purines and pyrimidines.

17. Benton (A. G.). — Chitinovorous bacteria. A preliminary survey. *J. Bact.*, 1935, **29**, 449-464.

18. Bergey's *Manual of Determinative Bacteriology*. The Williams and Wilkins Co., éd., Baltimore, 1re éd. 1923 ; 3e éd., 1930 ; 4e éd., 1934 ; 5e éd., 1939 ; 6e éd., 1948 ; 7e éd., 1957.

19. Beveridge (W. I. B.). — Foot-rot in sheep : a transmissible disease due to infection with *Fusiformis nodosus* (n. sp.). *Coun. Sc. Ind. Res.*, 1941, **140**, 5-56.

20. Bezjak (V.). — Sur deux espèces anaérobies nouvelles *Leptotrichia hæmolytica* n. sp., *Terminosporus indologenes* n. sp. *Ann. Inst. Pasteur*, 1952, **82**, 98-101.

21. Bibby (B. G.) et Berry (G. P.). — A cultural study of filamentous bacteria obtained from the human mouth. *J. Bact.*, 1939, **38**, 263-274.

22. Blass (J.) et Sarraff (A.). — Analyse des amines biologiques par les techniques de chromatoïonophorèse, électrophorèse et chromatographie sur papier. *J. Chromatog.*, 1960, **3**, 168-177.

23. Bloch (R. J.), Durrum (E. L.) et Zweig (G.). — Paper chromatography and paper electrophoresis. Academic Press, éd., New York, 1958.

24. Block (R. J.) et Henry (S. M.). — Metabolism of the sulfur amino-acids and of sulfate in *Blattella germanica*. *Nature* (Lond.), 1961, **191**, 392-393.

25. Böe (J.). — *Fusobacterium*. Studies on its bacteriology, serology and pathogenicity. *Skrifter utg. av. Det. Norske Videnskaps Akad. Oslo, I, Mat. Naturv. Klasse.*, 1941, **9**, 1-191.

26. Böe (J.) et Thjötta (Th.). — The position of *Fusobacterium* and *Leptotrichia* in the bacteriological system. *Acta path. Microbiol. Scand.*, 1944, **21**, 441-450.

27. Bragg (P. D.) et Reeves (R. E.). — Studies on the carbohydrate metabolism of a Gram-negative anaerobe *(Bacteroides symbiosus)* used in the culture of *Entamœba histolytica*. *J. Bact.*, 1962, **83**, 76-84.

28. Brocard (H.). — Sur les caractères microbiologiques de certains bacilles fusiformes pathogènes. *C. R. Soc. Biol.*, 1954, **148**, 83-84.

29. Brooks (M. A.) et Richards (A. G.). — Intracellular symbiosis in cockroaches. I. Production of aposymbiotic cockroaches. *Biol. Bull.*, 1955, **109**, 22-39.

30. Brooks (M. A.) et Richards (A. G.). — Intracellular symbiosis in cockroaches. III. Reinfection of aposymbiotic cockroaches with symbiotes. *J. Exptl. Zool.*, 1956, **132**, 447-465.

31. Brues (C. T.) et Dunn (R. C.). — The effect of penicillin and certain sulfa drugs on the intracellular bacteroids of the cockroach. *Science*, 1945, **101**, 336-337.

32. Bryant (M. P.) et Burkey (L. A.). — Cultural methods and some characteristics of some of the more numerous groups of bacteria in the bovine rumen. *J. Dairy Sc.*, 1953, **36**, 205-217.

33. Bryant (M. P.) et Small (N.). — The anaerobic monotrichous butyric acid-producing curved rod-shaped bacteria of the rumen. *J. Bact.*, 1956, **72**, 16-21.

34. Bryant (M. P.), Bouma (C.) et Robinson (I.). — Studies on the composition of the ruminal flora and fauna of young calves. *J. Dairy Sc.*, 1958, **41**, 1747-1767.

35. Burdon (K. L.). — *Bacterium melaninogenicum* from normal and pathologic tissues. *J. inf. Dis.*, 1928, **42**, 161-171.

36. Caroli (J.), Paraf (A.), Etévé (J.) et Prévot (A.). — Hépatite ictérigène nécrosante pseudo-angiocholitique à *Fusiformis nucleatus*. *Rev. Med. Chir. des mal. du foie, rate, pancréas*, 1956, **31**, 29-50.

37 *a*. Catlin (B. W.) et Cunningham (L. S.). — Transforming activities and base contents of deoxyribonucleate preparation from various Neisseriae. *J. gen. Microbiol.*, 1961, **26**, 303-312.

37 *b*. Chadefaud (M.) et Emberger (L.). — Traité de Botanique Systématique, 3 vol., Masson, éd., Paris, 1960.

38. Chargaff (E.). — Chemical specificity of nucleic acids and mechanism of their enzymatic degradation. *Experientia*, 1950, **6**, 201-240.

39. Chargaff (E.). — Structure and function of nucleic acids as cell constituents. *Fed. Proc.*, 1951, **10**, 654-659.

40. Chargaff (E.). — *In* Chargaff (E.) et Davidson (J. N.). The nucleic acids. Academic Press, éd., New York, 1955, **1**, 307-371 : Isolation and composition of the deoxypentose nucleic acids and of the corresponding nucleoproteins.

41. Chargaff (E.), Schulman (H. M.) et Shapiro (H. S.). — Protoplasts of *E. coli* as sources and acceptors of desoxypentose nucleic acid ; rehabilitation of a deficient mutant. *Nature* (Lond.), 1957, **180**, 851-852.

42. Chauvin et Noirot. — *In* Toth, 1952 (180).

43. Cleveland (L. R.). — The physiological and symbiotic relationships between the intestinal protozoa of termites and their host, with special reference to *Reticulitermes flavipes* Kollar. *Biol. Bull.*, 1924, **46**, 178-227.

44. Cleveland (L. R.). — Les effets de l'inanition et de l'oxygénation sur la symbiose entre les termites et leurs flagellés intestinaux. *Ann. Parasitol.*, 1925, **3**, 35-36.

45. Code de Nomenclature bactérienne. — *Ann. Inst. Pasteur*, 1948, **74**, 271-299.

46. Colobert (L.) et Rocquet (G.). — Position taxonomique de *Micrococcus lysodeikticus* et de *Coccus* P. Caractère contingent de la sécrétion de protéinase chez certaines espèces du genre *Sarcina*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1957, **93**, 663-670.

47. Crampton (C. F.), Lipshitz (R.) et Chargaff (E.). — Studies on nucleoproteins. II. Fractionation of deoxyribonucleic acids through fractional dissociation of their complexes with basic proteins. *J. Biol. Chem.*, 1954, **211**, 125-142.

48. Davis (G. H. G.) et Baird-Parker (A. C.). — *Leptotrichia buccalis*. *Brit. Dental. J.*, 1959, **106**, 70-73.

49. Dickman (A.). — Studies on the intestinal flora of termites with reference to their ability to digest cellulose. *Biol. Bull.*, 1931, **61**, 85-92.

50. Dienes (L.). — From variation in culture of *Bacteroides funduliformis*. *J. Bact.*, 1943, **45**, 21.

51. Dienes (L.). — Various types of reproductive processes in *Bacteroides* strains. *J. Bact.*, 1944, **47**, 417.

52. Dienes (L.). — The isolation of L type cultures from *Bacteroides* with the aid of penicillin and their reversion into to usual bacilli. *J. Bact.*, 1948, **56**, 445-456.

53. Dienes (L.) et Weinberger (H. J.). — The L forms of bacteria. *Bact. Rev.*, 1951, **15**, 245-288.

54. Duboscq (O.) et Grassé (P.). — Les Schizophytes de *Devescovina hilli* n. sp. *C. R. Soc. Biol.*, 1926, **94**, 33-35.

55. Duboscq (O.) et Grassé (P.). — Flagellés et Schizophytes de *Calotermes iridipennis* Frog. *Arch. Zool. Exp. et Gen.*, 1927, **66**, 451-496.

56. Dunn (D. B.) et Smith (J. D.). — The occurrence of 6-methylaminopurine in deoxyribonucleic acids. *Biochem. J.*, 1958, **68**, 627-636.

57. Dutta (S. K.), Jones (A. S.) et Stacey (M.). — The nucleic acids of *Sarcina lutea*. *J. gen. Microbiol.*, 1956, **14**, 160-166.

58. Eggerth (A. H.) et Gagnon (B. H.). — The *Bacteroides* of human feces. *J. Bact.*, 1933, **25**, 389-413.

59 *a*. Falkow (S.), Ryman (I. R.) et Washington (O.). — Deoxyribonucleic acid base composition of *Proteus* and Providence organisms. *J. Bact.*, 1962, **83**, 1318-1321.

59 *b*. Frank (W.). — 1955, 1956, cité par Roth (L. M.) et Willis (E. R.), 1961 (154).

60. Gibbons (R. J.) et Mac Donald (J. B.). — Hemin and vitamin K compounds as required factors for the cultivation of certain strains of *Bacteroides melaninogenicus*. *J. Bact.*, 1960, **80**, 164-170.

61. Gilmour (M. N.), Howell (A.) et Bibby (B. G.). — The classification of organisms termed *Leptotrichia (Leptothrix) buccalis*. I. Review of the literature and proposed separation into *Leptotrichia buccalis* Trevisan, 1879 and *Bacterionema* Gen Nov., *B. matruchotii* (Mendel, 1919) Comb. Nov. *Bact. Rev.*, 1961, **25**, 131-141.

62. Gilmour (M. N.). — The classification of organisms termed *Leptotrichia (Leptothrix) buccalis*. II. Reproduction of *Bacterionema matruchotii*. *Bact. Rev.*, 1961, **25**, 142-151.

63. Gilmour (M. N.) et Beck (P. H.). — The classification of organisms termed *Leptotrichia (Leptothrix) buccalis*. III. Growth and biochemical characteristics of *Bacterionema matruchotii*. *Bact. Rev.*, 1961, **25**, 152-161.

64. Graef (W.). — Anaerobe Myxobakterien, neue Mikroben in der menschlichen Mundhöhle. *Arch. f. Hyg. und Bakt.*, 1961, **145**, 405-459.

65. Grassé (P. P.). — Ordre des Isoptères ou Termites (*Isoptera* Brullé, 1882). *Traité de Zoologie*, Masson, éd., Paris, 1949, **9**, 408-544.

66. Grassé (P. P.). — Symposium sur la « Symbiose chez les insectes » (Amsterdam, 1951). Rôle des Flagellés symbiotiques chez les blattes et les termites. *Tijdschr. Entomol.*, 1952, **95**, 70-80.

67. Grassé (P. P.) et Noirot (Ch.). — L'évolution de la symbiose chez les Isoptères. *Experientia*, 1959, **15**, 365-408.

68. Haller (G. de). — La symbiose bactérienne intracellulaire chez la blatte. *Arch. des Scien. Genève*, 1955, **8**, 229-304.

69. Hampp (E. G.), Scott (D. B.) et Wyckoff (R. W. G.). — Morphological characteristics of oral fusobacteria as revealed by the electron microscope. *J. Bact.*, 1960, **79**, 716-728.

70. Henry (S. M.) et Block (R. J.). — The sulfur metabolism of insects. IV. The conversion of inorganic sulfate to organic sulfur compounds in cockroaches. The role of intracellular symbionts. *Contrib. Boyce Thompson Inst.*, 1960, **20**, 317-329.

71. Hertig (M.) et Wolbach (S. B.). — Studies on rickettsia-like microorganisms in insects. *J. Med. Res.*, 1924, **44**, 329-374.

72. Hine (M. K.) et Berry (G. P.). — Morphological and cultural studies of the genus *Fusiformis*. *J. Bact.*, 1937, **34**, 517-532.

73. Hoelling (A.). — Die Kernverhältnisse von *Fusiformis termitidis*. *Arch. f. Protistenkunde*, 1910, **19**, 239-245.

74. Hungate (R. E.). — Quantitative analyses on the cellulose fermentation by termite Protozoa. *Ann. Entom. Soc. Amer.*, 1943, **36**, 730-739.

75. Huppert (J.) et Rebeyrotte (N.). — Extraction d'un acide désoxyribonucléique transformant par le dodécyl sulfate de sodium et le phénol. *Biochim. Biophys. Acta*, 1960, **45**, 189-191.

76. Hurwitz (J.), Furth (J. J.), Anders (M.), Ortiz (P. J.) et August (J. T.). — The enzymatic incorporation of ribonucleotides into RNA and the role of DNA. *J. Chim. Phys.*, 1961, **58**, 934-943.

77. Jackins (H. C.) et Barker (H. A.). — Fermentative processes of the fusiform bacteria. *J. Bact.*, 1951, **61**, 101-114.

78. Jacob (F.) et Monod (J.). — Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *J. Mol. Biol.*, 1961, **3**, 318-356.

79. Jeynes (M. H.). — Taxonomic position of the genus *Selenomonas* (Von Prowazek). *Nature* (Lond.), 1955, **176**, 1077.

80. Jeynes (M. H.). — Analysis of the genus *Selenomonas* with respect to the transfer to the protozoa. *Int. Bull. Bact. Nom. Tax.*, 1956, **6**, 53-59.

81. Jonsen (J.) et Thjötta (Th.). — Studies on *Bacteroides*. II. *B. funduliformis* and its relation to *Necrobacterium necrophorum (Actinomyces necrophorus)*. *Acta Path. Micr. Scand.*, 1948, **25**, 688-702.

82. Judicial Commission of the Inter. Comm. Bact. Nomencl. — Opinion 13. Conservation and rejection of names of genera of bacteria proposed by Trevisan, 1842-1890. *Int. Bull. Bact. Nom. Tax.*, 1954, **4**, 151-156.

83. Judicial Commission of the Inter. Comm. Bact. Nomencl. — Preliminary Statement. Status of the generic name *Selenomonas* Von Prowazek. *Int. Bull. Bact. Nom. Tax.*, 1955, **5**, 7-10.

84. Keller (H.). — Die Kultur der intrazellulären Symbioten von *Periplaneta orientalis*. *Zeit. f. Naturforsch.*, 1950, **5** B, 269-273.

85. Kirchheiner (E.). — Recherches biochimiques et immunologiques comparées sur *Spherophorus necrophorus* et *Spherophorus funduliformis*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1940, **64**, 238-254.

86. Klieneberger-Nobel (E.). — Do *Fusiformis necrophorus* and *Streptobacillus moniliformis* show a primitive form of sexuality according to Mellon's views ? *J. gen. Microbiol.*, 1950, **4**, VI.

87. Knorr (M.). — Ueber die fusospirillare Symbiose, die Gattung *Fusobacterium* (K. B. Lehman) und *Spirillum sputigenum*. Die Gattung *Fusobacterium*. *Zentr. Bakt. Parasitenk.*, I. Orig., 1922, **87**, 536-545.

88. Krassilnikov (N. A.). — Diagnostik der Bakterien und Actinomyceten. G. Fischer, éd., Iéna, 1959.

89. Krumwiede (C.) et Pratt (J. S.). — Fusiform bacilli : cultural characteristics. *J. infect. Dis.*, 1913, **13**, 438-441.

90. Lahelle (O.) et Thjötta (Th.). — A systematic study of *Fusobacterium* and *Necrobacterium* (i. e. *Actinomyces*, *Necrophorus*, *Nekrosebacillus* Bang) as to their biological relationships and proposal of a new and adequate name of the latter. *Acta Path. Micr. Scand.*, 1945, **22**, 310-322.

91. Lahelle (O.). — *Necrobacterium*. A study of its bacteriology, serology and pathogenicity, and its relation to *Fusobacterium*. *Acta Path. Micr. Scand.*, 1947, suppl. 67, 361 p.

92. Lanni (F.). — Base composition of microbial DNA in relation to genetic homology. *Bact. Proc.*, 1959, 45.

93. Lavergne (E. de), Burdin (J. C.), Schmitt (J.) et Le Moyne (M. T.). — Étude du comportement de 17 espèces anaérobies strictes vis-à-vis de 11 antibiotiques. *Ann. Inst. Pasteur*, 1956, **91**, 631-640.

94. Lederberg (J.). — Mecanism of action of penicillin. *J. Bact.*, 1957, **73**, 144.
95. Lederberg (J.) et St Clair (J.). — Protoplasts and L type growth of *Escherichia coli*. *J. Bact.*, 1958, **75**, 143-160.
96. Lee (K. Y.). — Extraction et analyse des ADN des microorganismes. *Thèse médecine*, Séoul. 1956.
97. Lee (K. Y.), Wahl (R.) et Barbu (E.). — Contenu en bases puriques et pyrimidiques des acides désoxyribonucléiques des bactéries. *Ann. Inst. Pasteur*, 1956, **91**, 212-224.
98. Leifson (E.). — Atlas of bacterial flagellation. Academic Press, éd., New York, 1960.
99. Lessel (E. F.) et Breed (R. S.). — *Selenomonas* Boskamp, 1922. A genus that includes species showing an unusual type of flagellation. *Bact. Rev.*, 1954, **18**, 165-168.
100. Lessel (E. F.). — The nomenclature status of the generic names of the Actinomycetales. *Int. Bull. Bact. Nom. Tax.*, 1960, **10**, 87-192.
101. Lev (M.). — Apparent requirement for vitamin K of rumen strains of *Fusiformis nigrescens*. *Nature* (Lond.), 1958, **181**, 203-204.
102. Lev (M.). — The growth-promoting activity of vitamin K and several analogues for a rumen strain of *Fusiformis nigrescens*. *Biochem. J.*, 1959, **71**, 3 p.
103. Lewis (K. H.) et Rettger (L. F.). — Non sporulating anaerobic bacteria of the intestinal tract. I. Occurence and taxonomic relationships. *J. Bact.*, 1940, **40**, 287-307.
104. Lewis (K. H.), Bedell (M.) et Rettger (L. F.). — Non sporulating anaerobic bacteria of the intestinal tract. II. Growth-facilitating factors. *J. Bact.*, 1940, **40**, 309-320.
105. Lipshitz (R.) et Chargaff (E.). — Studies on nucleoproteins. IV. Preparation of the deoxyribonucleoprotein and fractionation of the deoxyribonucleic acid of wheat germ. *Biochim. Biophys. Acta*, 1956, **19**, 256-266.
106. Lwoff (A.). — L'évolution physiologique. Étude des pertes de fonctions chez les microorganismes. Hermann, éd., Paris, 1944.
107. Mac Donald (J. B.), Knoll (M. L.) et Sutton (R. M.). — Motility in a species of non-flagellated bacteria. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1953, **84**, 459-462.
108. Marmur (J.). — A procedure for the isolation of deoxyribonucleic acid from micro-organisms. *J. Mol. Biol.*, 1961, **3**, 208-218.
109. Marmur (J.), Schildkraut (C. L.) et Doty (P.). — The reversible denaturation of DNA and its use in studies of nucleic acid homologies and the biological relatedness of microorganisms. *J. Chim. Phys.*, 1961, **58**, 945-953.
110. Marshak (A.) et Vogel (H. J.). — Microdetermination of purines and pyrimidines in biological materials. *J. biol. Chem.*, 1951, **189**, 597-615.
111. Martres (M.), Brygoo (E. R.) et Thouvenot (H.). — Étude d'une espèce nouvelle du genre *Zuberella : Z. constellata* n. sp. *Ann. Inst. Pasteur*, 1952, **83**, 139-141.
112. Mazurek (C.). — Étude d'une variété pigmentée de *Leptotrichia innominata*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1955, **89**, 268.
113. Morris (E. O.). — Observations upon the cytology and life history of *Fusiformis*. *J. Hyg.*, 1953, **51**, 49-54.
114. Mudd (St.), Polevitzky (K.), Anderson (T. F.) et Kast (C. C.). — Bacterial morphology as shown by the electron microscope. III. Cell-

wall and protoplasm in a strain of *Fusobacterium*. *J. Bact.*, 1942, **44**, 361-366.

115. Narurkar (M. V.) et Sahasrabudhe (M. B.). — Comparison of the merits of the new method of hydrolysis of nucleic acid by P_2O_5 with those of the standard perchloric acid method. *Biochim. Biophys. Acta*, 1957, **23**, 367-371.

116. Noland (J. L.). — An improved method for the determination of the lethal temperature of insects, with special reference to studies on *Periplaneta americana*. *Proc. Indiana Acad. Scien.*, 1944, **53**, 186-187.

117. Oliver (W. W.) et Wherry (W. B.). — Notes on some bacterial parasites of the human mucous membranes. *J. infect. Dis.*, 1921, **28**, 341-344.

118. Omata (R. R.) et Disraely (M. N.). — A selective medium for oral fusobacteria. *J. Bact.*, 1956, **72**, 677-680.

119. Omata (R. R.). — Studies on the nutritional requirements of the fusobacteria. II. Requirements for pantothenate and purines. *J. Bact.*, 1959, **77**, 35-37.

120. Omata (R. R.) et Braunberg (R. C.). — Oral fusobacteria. *J. Bact.*, 1960, **80**, 737-740.

121. Osteux (R.), Guillaume (J.) et Laturaze (J.). — Séparation des acides aliphatiques volatils par chromatographie sur papier. *J. chromatogr.*, 1958, **1**, 70-85.

122. Patocka (F.) et Prévot (A.-R.). — Étude d'une nouvelle espèce anaérobie : *Capsularis stabilis* n. sp. *Ann. Inst. Pasteur*, 1947, **73**, 538-540.

123. Patocka (F.) et Reynes (V.). — Étude d'une nouvelle espèce anaérobie : *Leptotrichia vaginalis* n. sp. *Ann. Inst. Pasteur*, 1947, **73**, 599-600.

124. Patocka (F.) et Laplanche (J.). — Étude des caractères biochimiques de deux espèces de *Spherophorus : Sph. gulosus* et *Sph. mortiferus*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1947, **73**, 1206-1207.

125. Pierce (C. H.). — *Streptobacillus moniliformis*, its associated L_1 form, and other pleuropneumonia-like organisms. *J. Bact.*, 1942, **43**, 780 (Abstr.).

126. Pillot (J.) et Faure (M.). — Composition antigénique des Tréponèmes. I. L'antigène protéique de groupe de la souche Reiter. *Ann. Inst. Pasteur*, 1959, **96**, 196-210.

127. Pochon (J.). — Manuel technique d'analyse microbiologique du sol. Masson, éd., Paris, 1954.

128. Pochon (J.), Barjac (H. de) et Roche (A.). — Recherches sur la digestion de la cellulose chez le termite *Sphærotermes sphærothorax*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1959, **96**, 352-358.

129. Pratt (J. S.). — On the biology of *B. fusiformis*. *J. infect. Dis.*, 1927, **41**, 461-466.

130. Prévot (A.-R.). — Études de systématique bactérienne. III. Invalidité du genre *Bacteroides* Castellani et Chalmers. Démembrement et reclassification. *Ann. Inst. Pasteur*, 1938, **60**, 285-307.

131. Prévot (A.-R.) et Kirchheiner (E.). — Recherches sur la nature de la fermentation du glucose par *Fusiformis biacutus*. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, **128**, 963-964.

132. Prévot (A.-R.) et Kirchheiner (E.). — Existence d'un antigène commun aux deux espèces *Spherophorus funduliformis* et *Spherophorus necrophorus*. *C. R. Acad. Scien.*, 1939, **209**, 182-184.

133. Prévot (A.-R.). — Recherches sur la flore anaérobie de l'intestin humain : *Fusocillus girans* nov. sp. *C. R. Soc. Biol.*, 1940, **133**, 246-249.

134. Prévot (A.-R.) et Veillon (R.). — Recherches sur la flore anaérobie de l'intestin humain. Caractères biochimiques de *Fusocillus girans*. *C. R. Soc. Biol.*, 1940, **133**, 249-251.

135. Prévot (A.-R.) et Taffanel (J.). — Recherches biochimiques sur *F. fusiformis*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1942, **68**, 420-421.

136. Prévot (A.-R.). — Étude de systématique bactérienne. VII. *Actinomycetales*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1946, **72**, 2-11.

137. Prévot (A.-R.), Beerens (H.) et Zimmès-Chaverou (J.). — Étude des caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques de *Spherophorus varius*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1947, **73**, 390-391.

138. Prévot (A.-R.) et Peyré (M.). — Étude de *Fusiformis polymorphus* (Knorr) Bergey. *Ann. Inst. Pasteur*, 1947, **73**, 1124-1125.

139. Prévot (A.-R.) et Raynaud (M.). — Étude cytologique des sphéroïdes de *Spherophorus funduliformis*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1948, **74**, 334-336.

140. Prévot (A.-R.). — Actinomycétale anaérobie stricte nouvelle : *Spherophorus ridiculosus* n. sp. *Ann. Inst. Pasteur*, 1948, **75**, 387-389.

141. Prévot (A.-R.). — Manuel de Classification et de Détermination des Bactéries anaérobies, Masson, éd., Paris, 2e éd., 1948, 3e éd., 1957.

142. Prévot (A.-R.), Goret (P.), Joubert (L.), Tardieux (P.) et Aladame (N.). Recherches bactériologiques sur une infection purulente d'allure actinomycosique chez le chat. *Ann. Inst. Pasteur*, 1951, **81**, 85-88.

143. Prévot (A.-R.), Guintini (J.) et Thouvenot (H.). — Recherches sur l'organe giratoire de *Fusocillus girans*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1954, **86**, 774-776.

144. Prévot (A.-R.). — Biologie des maladies dues aux Anaérobies. Flammarion, éd., Paris, 1955.

145. Prévot (A.-R.). — *In* Dumas (J.). Bactériologie médicale. Flammarion, éd., Paris. Introduction à l'étude des anaérobies stricts, 1956.

146. Prévot (A.-R.), Tardieux (P.), Joubert (L.) et Cadore (F. de). — Recherches sur *Fusiformis nucleatus* (Knorr) et son pouvoir pathogène pour l'homme et les animaux. *Ann. Inst. Pasteur*, 1956, **91**, 787-798.

147. Prévot (A.-R.). — *In* Thomas (J. A.). Problèmes d'organisation et de fonction chez les bactéries et les virus. Exposés actuels de Biologie cellulaire. Masson, éd., Paris, 1958, 1-57 : Les éléments cytophysiologiques et l'organisation de la cellule bactérienne.

148. Prévot (A.-R.). — Techniques pour le diagnostic des bactéries anaérobies. Collection « Techniques de base », éd. de la Tourelle, Saint-Mandé, 1960.

149. Prévot (A.-R.). — Traité de Systématique Bactérienne. 2 vol. Dunod, éd., Paris, 1961.

150. Razin (S.) et Argaman (M.). — Properties of the mycoplasma (PPLO) cell envelope. *Bull. Res. Council of Israel*, 1961, **9** E, 121-122.

151. Razin (S.) et Oliver (O.). — Morphogenesis of mycoplasma and bacterial L-form colonies. *J. gen. Microbiol.*, 1961, **24**, 225-237.

152. Report of Committee of Soc. of Amer. Bacteriologists. — The families and genera of the bacteria. *J. Bact.*, 1920, **5**, 191-229.

153. Robin (L. A.). — Étude de deux *Sphærophoraceæ* : *Sph. pseudonecrophorus* et *Fusiformis nucleatus*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1948, **74**, 258-260.

154. Roth (L. M.) et Willis (E. R.). — The biotic associations of cockroaches. Smithsonian Misc. Coll., 1960, **141**, 470 p.

155. Schaeffer (P.). — La notion d'espèce après les recherches récentes de génétique bactérienne. *Ann. Inst. Pasteur*, 1958, **94**, 167-178.

156. Schaeffer (P.). — Les réactions hétérospécifiques dans l'étude de la transformation bactérienne. *Thèse Sciences Nat.*, Paris, 1961.

157. Schildkraut (C. L.), Marmur (J.) et Doty (P.). — The formation of hybrid DNA molecules and their use in studies of DNA homologies. *J. Mol. Biol.*, 1961, **3**, 595-617.

158. Schwabacher (H.), Lucas (D. R.) et Rimington (C.). — *Bacterium melaninogenicum* — A misnomer. *J. gen. Microbiol.*, 1947, **1**, 109-120.

159. Sebald (M.) et Prévot (A.-R.). — Étude d'une espèce nouvelle anaérobie stricte : *Micromonospora acetoformici* n. sp. isolée de l'intestin postérieur de *Reticulitermes lucifugus* var. *saintonnensis*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1962, **102**, 199-214.

160. Shaffer (J. G.). — Studies on the growth requirements of *Endamœba histolytica*. V. Studies on the nature of some of the factors in the Shaffer-Frye medium that affect the propagation of *E. histolytica*. *Amer. J. of Hyg.*, 1952, **56**, 119-138.

161. Shapiro (H. S.) et Chargaff (E.). — General features of nucleotide arrangement in deoxyribonucleic acids. *Feder. Proc.*, 1956, **15**, 342.

162. Shapiro (H. S.) et Chargaff (E.). — Characterization of nucleotide arrangement in deoxyribonucleic acids through stepwise acid degradation. *Biochim. Biophys. Acta*, 1957, **23**, 451-452.

163. Shapiro (H. S.) et Chargaff (E.). — Studies on the nucleotide arrangement in deoxyribonucleic acids. II. Differential analysis of pyrimidine nucleotide distribution as a method of characterization. *Biochim. Biophys. Acta*, 1957, **26**, 608-623.

164. Slanetz (L. W.) et Rettger (L. F.). — Systematic study of the fusiform bacteria. *J. Bact.*, 1933, **26**, 599-622.

165. Smith (D. T.). — Oral Spirochetes and related organisms in fuso-spirochetal disease, Londres, 1932.

166. Smith (W. E.). — Observations indicating a sexual mode of reproduction in a common *Bacterium (Bacteroides funduliformis)*. *J. Bact.*, 1944, **47**, 417-418.

167. Smith (W. E.), Mudd (S.) et Hillier (J.). — L-type variation and bacterial reproduction by large bodies as seen in electron micrographic studies of *Bacteroides funduliformis*. *J. Bact.*, 1948, **56**, 603-618.

168. Smith (J. D.) et Wyatt (G. R.). — The composition of some microbial deoxypentose nucleic acids. *Bioch. J.*, 1951, **49**, 144-148.

169. Spaulding (E. H.) et Rettger (L. F.). — The *Fusobacterium* genus. I. Biochemical and serological classification. *J. Bact.*, 1937, **34**, 535-548.

170. Srivastava (P. N.) et Gupta (P. D.). — Excretion of uric acid in *Periplaneta americana* L. *J. of Insect Physiol.*, 1961, **6**, 163-167.

171. Stanier (R. Y.). — Studies on the Cytophagas. *J. Bact.*, 1940, **40**, 619-634.

172. Stempen (H.) et Hutchinson (W. G.). — The formation and development of large bodies in *Proteus vulgaris* OX-19. I. Bright phase contrast observation of living-bacteria. *J. Bact.*, 1951, **61**, 321-325.

173. Stevens (W. C.). — Taxonomic studies of the genus *Bacteroides* and similar forms. *Thèse Univ. de Vanderbilt*, 1956.

174. Stuy (J. H.). — The nucleic acids of *Bacillus cereus*. *J. Bact.*, 1958 *a*, **76**, 179-184. Nucleic acid synthesis in ultraviolet irradiated *Bacillus cereus*. *J. Bact.*, 1958 *b*, **76**, 668-669.

175 *a*. Sueoka (N.). — Variation and heterogeneity of base composition of deoxyribonucleic acids : a compilation of old and new data. *J. Mol. Biol.*, 1961. **3**, 31-40.

175 *b*. Tamimi (H. A.), Hiltbrand (N.) et Loercher (H.). — Some growth requirements of *Bacteroides fragilis*. *J. Bact.*, 1960, **80**, 472-476.

176. Tardieux (P.) et Second (L.). — Recherches sur *Spherophorus pyogenes* (Buday) P. 1938. *Ann. Inst. Pasteur*, 1949, **76**, 543-545.

177. Tardieux (P.). — Étude de deux espèces nouvelles du genre *Spherophorus*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1951, **80**, 275-280.

178. Thjötta (Th.), Hartmann (O.) et Böe (J.). — A study of the *Leptotrichia* Trevisan. History, morphology, biological and serological characteristics. *Arch. Utg. av. Det. Norske Videnskaps Akad. Oslo. I. Mat. Naturv. Kl.*, 1939, **5**, 1-41.

179. Topley (W. W. C.) et Wilson (G. S.). — The principles of Bacteriology and Immunity. E. Arnold, éd., Londres, 2e éd., 1936.

180. Toth (L.). — *In* Symposium sur la Symbiose chez les insectes, Amsterdam, 1951. The role of nitrogen active microorganisms in the nitrogen metabolism of insects. *Tijdschr. Entomol.*, 1952, **95**, 43-62.

181. Tsumita (T.) et Chargaff (E.). — Studies on nucleoproteins. IV. The deoxyribonucleoprotein and the deoxyribonucleic acid of bovine tubercle bacilli (B. C. G.). *Biochim. Biophys. Acta*, 1958, **29**, 568-578.

182. Vaniouchine (B. F.) et Belozersky (A. N.). — « Contenu en nucléotides des acides ribonucléique et désoxyribonucléique de diverses bactéries autotrophes ». *Dokladi Ac. Sc. S. S. S. R.*, 1960, **135**, 197-199.

183. Varney (P. L.). — The serological classification of fusiform bacilli. *J. Bact.*, 1927, **13**, 275-314.

184. Veillon (M. M.) et Zuber. — Recherches sur quelques microbes strictement anaérobies et leur rôle en pathologie. *Arch. Med. Exp.*, 1898, **10**, 517-545.

185. Vincent (H.). — Sur l'étiologie et sur les lésions anatomopathologiques de la pourriture d'hôpital. *Ann. Inst. Pasteur*, 1896, **10**, 488-510.

186. Vincent (H.). — Sur la culture et l'inoculation du bacille fusiforme. *C. R. Soc. Biol.*, 1901, **53**, 339-341.

187. Vischer (E.), Zamenhof (S.) et Chargaff (E.). — Microbial nucleic acids : the desoxypentose nucleic acids of avian tubercle bacilli and yeast. *J. Biol. Chem.*, 1949, **177**, 429-438.

188. Watson (J. D.) et Crick (F. H. C.). — Molecular structure of nucleic acids. A structure for deoxyribonucleic acid. *Nature* (Lond.), 1953, **171**, 737-738.

189. Weinberg (M.) et Prévot (A.-R.). — Recherches sur la flore microbienne de l'appendicite. *Fusobacterium biacutum* n. sp. *C. R. Soc. Biol.*, 1926, **95**, 519-522.

190. Weinberg (M.), Nativelle (R.) et Prévot (A.-R.). — Les microbes anaérobies. Monographie, Masson, éd., Paris, 1937.

191. Weiss (J. E.) et Rettger (L. F.). — The Gram-negative *Bacteroides* of the intestine. *J. Bact.*, 1937, **33**, 423-434.

192. Weiss (Ch.) et Mercado (D. G.). — Demonstration of type specific proteins in extracts of fusobacteria. *J. exptl. Med.*, 1938, **67**, 49-59.

193. Wilkinson (J. F.) et Duguid (J. P.). — The influence of cultural conditions on bacterial cytology. *Int. Rev. Cytol.*, 1960, **9**, 1-76.

194. Wilson (G. S.) et Miles (A. A.). — Topley and Wilson's principles of Bacteriology and Immunity, E. Arnold, éd., Londres, 3e éd., 1946 ; 4e éd., 1955.

195. Wolf (J.). — Contribution à la morphologie des bactéroïdes des blattes (*Periplaneta orientalis* L.). *C. R. Soc. Biol.*, 1924, **91**, 1180-1182.

196. Wollman (E. L.) et Jacob (F.). — La sexualité des Bactéries. Masson, éd., Paris, 1959.
197. Work (E.). — Biochemistry of the bacterial cell wall. *Nature* (Lond.), 1957, **179**, 841-847.
198. Wyatt (G. R.). — Occurrence of 5-methylcytosine in nucleic acids. *Nature* (Lond.), 1950, **166**, 237-238.
199. Wyatt (G. R.). — The purine and pyrimidine composition of deoxypentose nucleic acids. *Biochem. J.*, 1951, **48**, 584-590.
200. Wyatt (G. R.). — Specificity in the composition of nucleic acids. *Exp. Cell Res.*, Supp., 1952, **2**, 201-215.
201. Wyatt (G. R.). — *In* Chargaff (E.) et Davidson (J. N.). The nucleic acids. Academic Press, éd., New York et Londres, 1955, **1**, 243-265 : Separation of nucleic acid components by chromatography on filter paper.
202. Zamenhof (S.), Brawerman (G.) et Chargaff (E.). — On the deoxypentose nucleic acids from several microorganisms. *Biochim. Biophys. Acta*, 1952, **9**, 402-405.

ERRATUM

Page 45, 14e-15e lignes du haut, *au lieu de* : « et détruites plus facilement », *lire* : « plus difficilement ».

IMPRIMERIE BARNÉOUD S. A.
LAVAL (Mayenne)
N° 4512. — 11-1962.

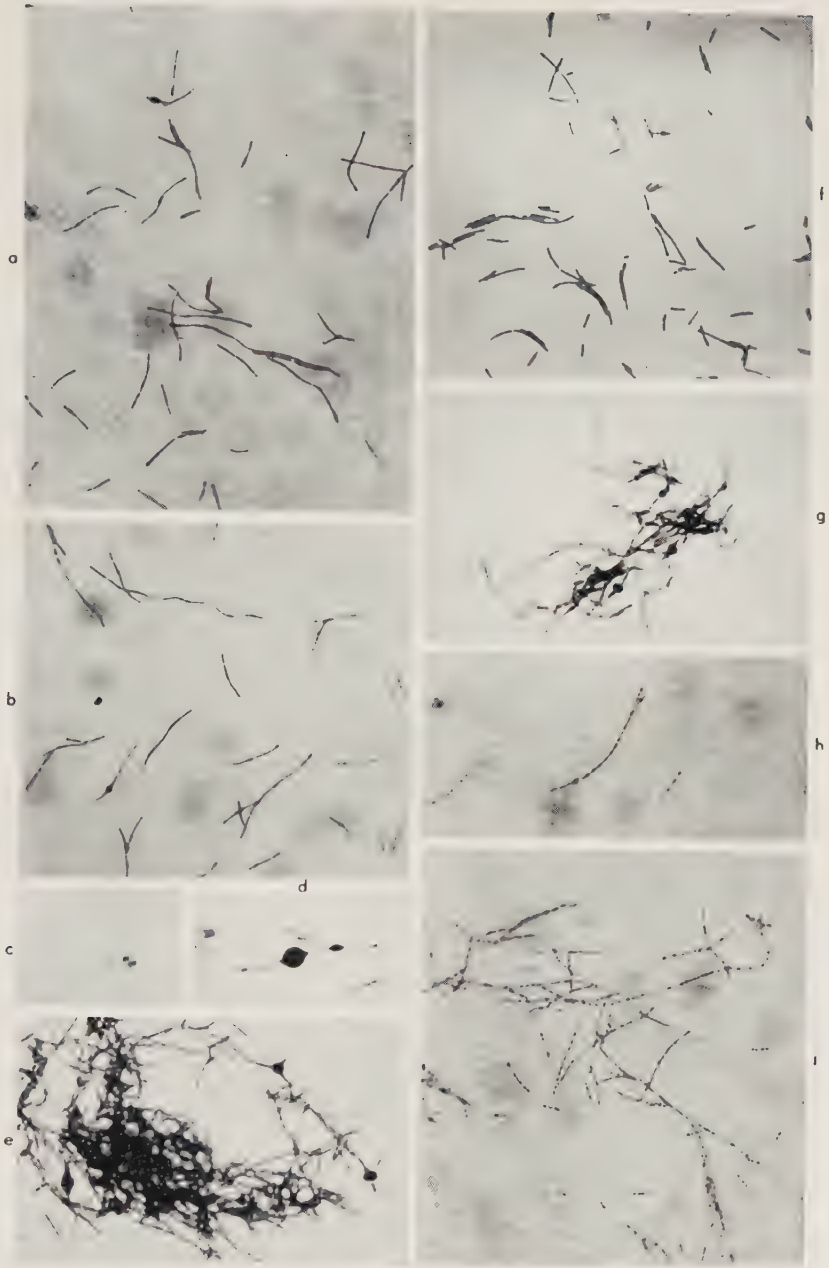

FIG. 1. — *Sphærophorus siccus* var. *termitidis* ; souche Te 107 A : culture de 24 heures en bouillon VF (pH 1 040).

a et *b* : formes courtes et filamenteuses (2e passage) ; coloration de Gram.

d, *e*, *f*, *g* : formes courtes et filamenteuses ; sphéroïdes. Les extrémités ne sont généralement pas effilées. Coloration de Gram.

c, *h*, *i* : coloration de Robinow : sphéroïde possédant 4 « noyaux » (*c*) ; ramification (*h*) ; formes filamenteuses avec de nombreux « noyaux » (*i*).

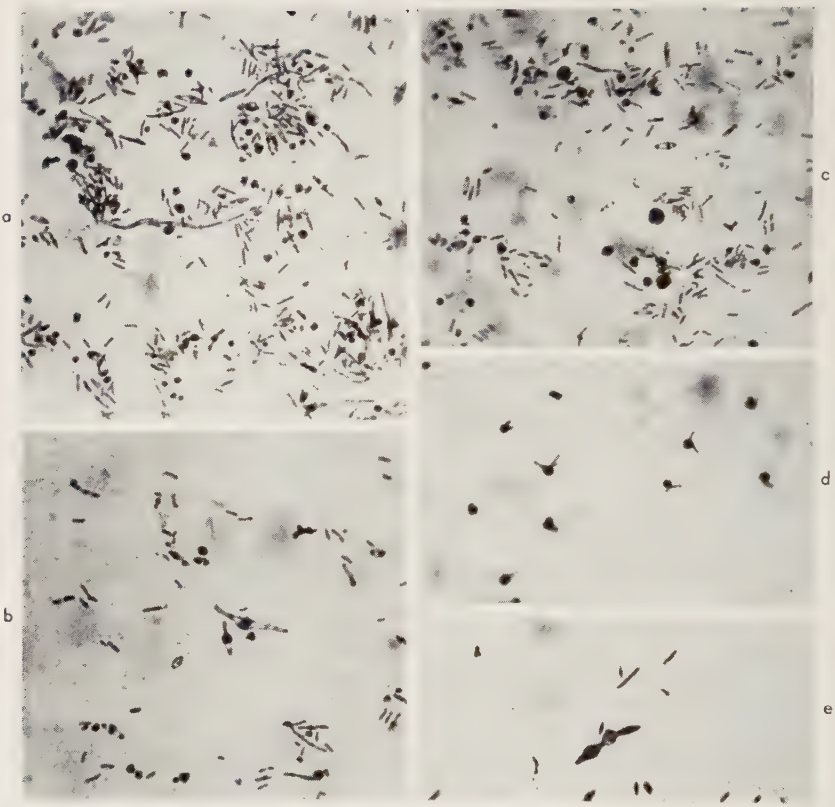

Fig. 2. — *Sphærophorus varius* var. *sulfitoreductans* ; # Te 53 : coloration de Gram (× 1 040). Cultures de 18 à 24 heures en gélose VF (fig. *a* et *c*) ou en bouillon VF (fig. *b*, *d* et *e*).

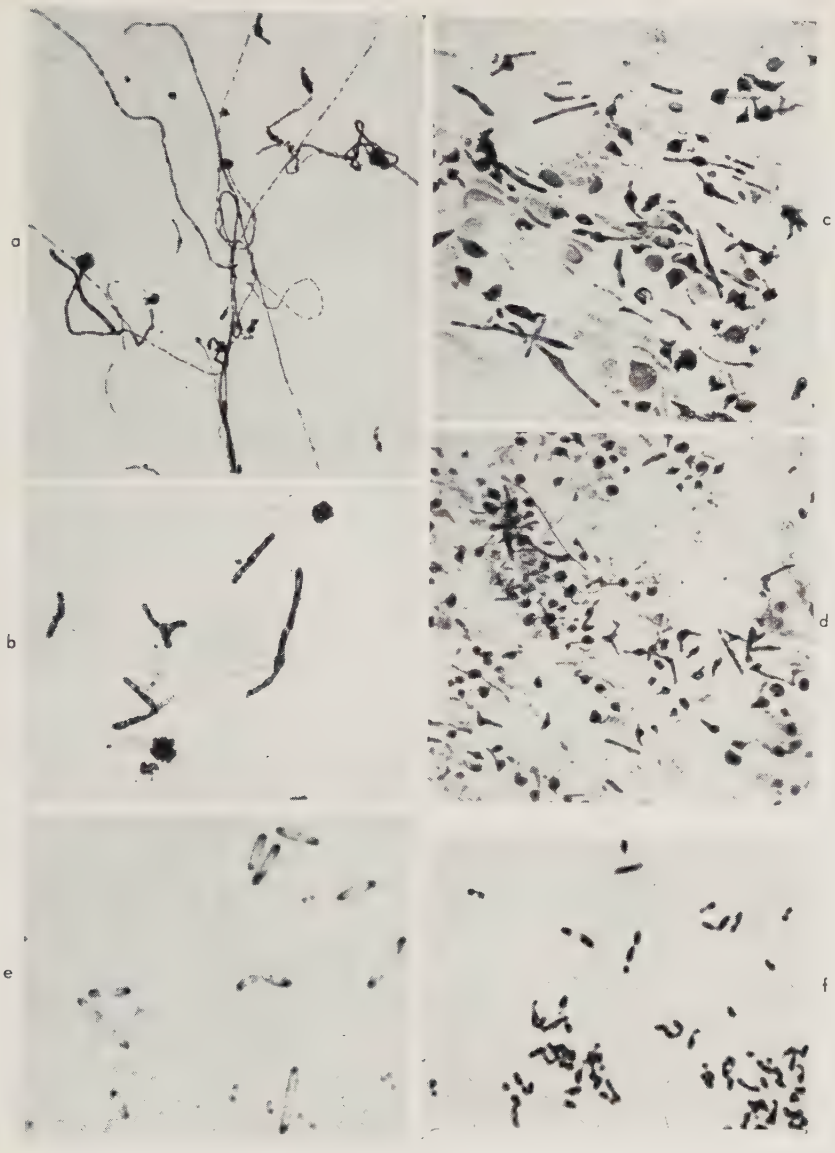

Fig. 3. — *Sphærophorus varius* var. *sulfitoreductans* ;
(coloration de Gram) :

a : ≠ Bl_1 : culture de 24 heures en bouillon VF (6e passage). Formes filamenteuses et sphéroïdes (× 1 040).

b : ≠ Bl_1 : culture de 24 heures en gélose VF profonde (6e passage). Formes courtes et sphéroïdes (× 1 040).

c et *d* : ≠ Bl_1 : culture de 24 heures en gélose profonde VF (4e passage). Sphéroïdes et formes filamenteuses (× 1 040).

e : ≠ Bl_6 : culture de 24 heures en bouillon VF (2e passage). Formes en navette à coloration bipolaire (× 2 000).

f : ≠ Bl_{10} : culture de 24 heures sur gélose inclinée sous vide (fuchsine ; × 2000).

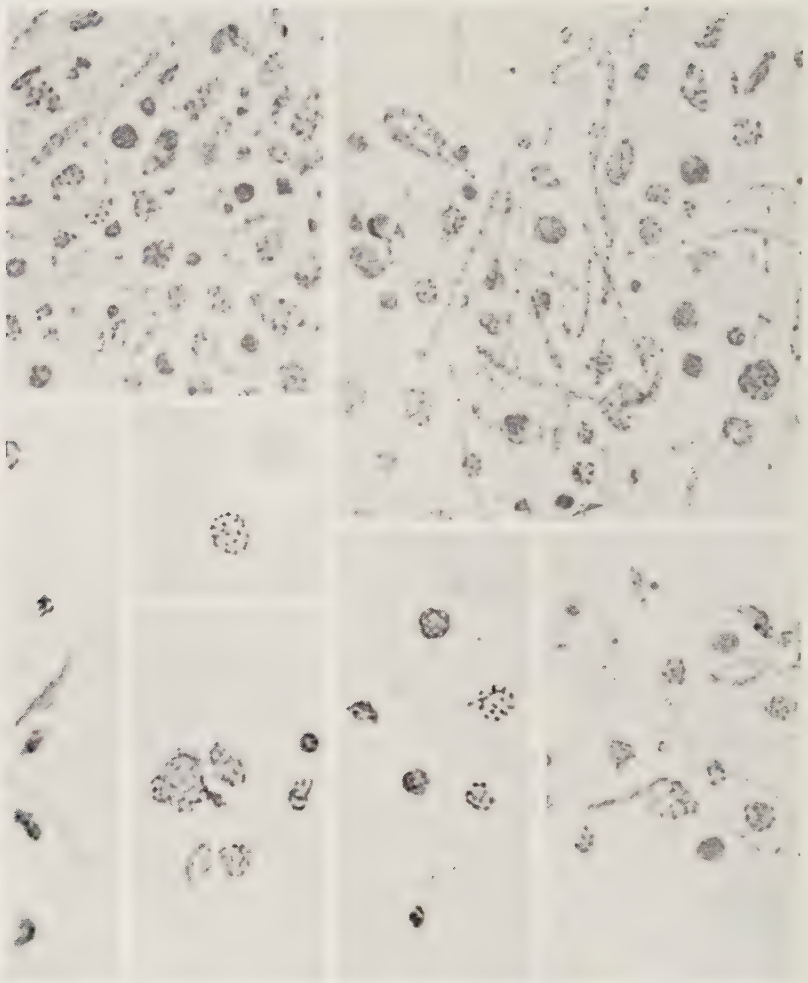

FIG. 4. — *Sphærophorus varius* var. *sulfitoreductans* ;
(coloration de Robinow (× 2 000) ; contraste de phase).

≠ Bl_1 : culture de 24 heures sur gélose inclinée VF + sérum (culture sous vide).
Très nombreux « noyaux » dans les sphéroïdes et les formes filamenteuses.

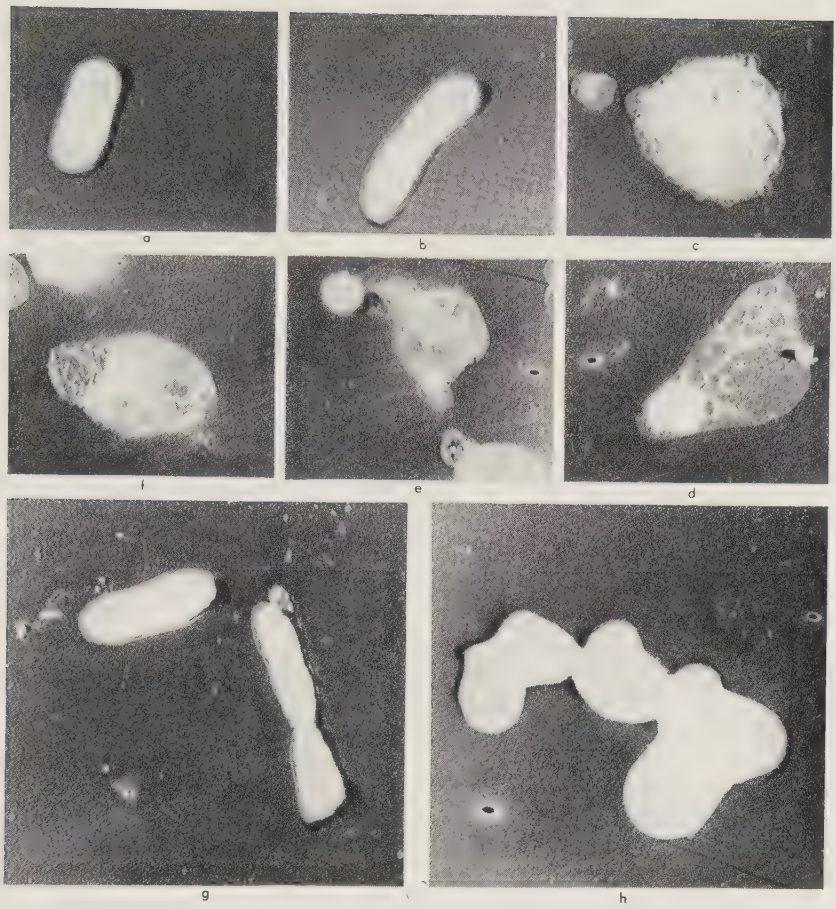

FIG. 5. — Formes « anormales » de Bl_1 (*Sphærophorus varius* var. *sulfitoreductans*) (microscope électronique ; × 12 000) (clichés J. Giuntini) ; cultures de 24 heures en gélose inclinée VF + sérum, sous vide. Les formes bacillaires possèdent seules un liseré bordant clair correspondant à une paroi normale (fig. *a*, *b* et *g* : bactérie située à gauche) ; la figure *h* correspond à une forme de bourgeonnement : la paroi externe est mince mais régulière. Dans la figure *c*, la paroi du sphéroïde existe mais est manifestement anormale ; *d*, *e*, *f* : parois vidées de leur contenu protoplasmique.

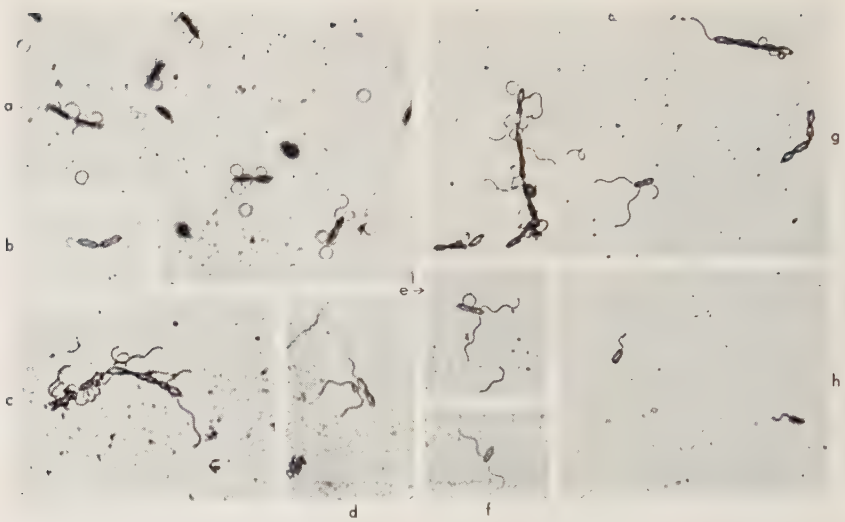

Fig. 7. — Coloration de Leifson (× 1 040) ; contraste de phase.

a à *g* : # 128 II et 139 I′ *(Fusocillus girans)*. Ciliature monotriche subpolaire ou péritriche, de type « enroulé » (*a* et *b*) ou « normal » (les autres). L'aspect des figures *a* et *b* est le plus fréquent.

h : # 1 041 B *(Sphærocillus bullosus* ?). Cil unique polaire.

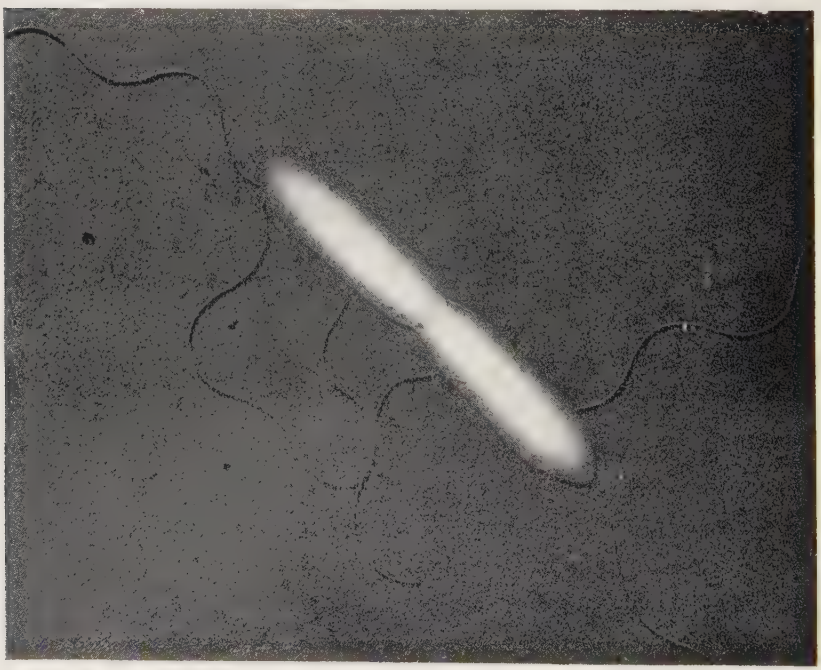

Fig. 9. — Ciliature de *Fusocillus plauti* (# S_2) au microscope électronique (× 24 000) (clichés J. Giuntini). Ciliature péritriche de type normal.

FIG. 8. — Ciliature de *Fusocillus girans* au microscope électronique (clichés J. Giuntini).

a, *b*, *c*1-2 : # 627, ciliature monotriche subpolaire (× 24 000).
d, *e* : # 128 II, ciliature péritriche (× 24 000).
f : # 139 I′, ciliature péritriche (× 13 000).

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Les facteurs de croissance des Spirochètes.

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 26 octobre 1962.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

MARC ZAMANSKY.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

JEAN ROCHE.

IMPRIMERIE BARNÉOUD S. A., LAVAL. — N° 4538. — 11-1962.